UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BRAUCHBARKEIT EINES EINFACHEN RADIALEN IMMUNDIFFUSIONSTESTES („CALF COLOSTRUM IG STATUS") ZUR ERMITTLUNG DES GAMMAGLOBULINGEHALTES IM BLUT DES KALBES

ANNA BOLINDER

Diss
München
1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546827_0019

Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. G. Dirksen

Untersuchungen über die Brauchbarkeit eines einfachen radialen Immundiffusionstestes ("Calf Colostrum Ig Status") zur Ermittlung des Gammaglobulingehaltes im Blut des Kalbes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Anna Bolinder
aus Stockholm

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen
Korreferent: Prof. Dr. J. Gropp

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

INHALTSVERZEICHNIS 1

EINLEITUNG 4

SCHRIFTTUM 5

Charakteristika der bovinen Immunglobuline 5

Das Immunsystem des Rinderfoetus 7

Die Vorgänge bei der Sekretion sowie die Konzentrationen kolostraler Immunglobuline 8

Die Resorption der Immunglobuline beim neugeborenen Kalb 10

Die Bedeutung der humoralen Immunglobuline für die Krankheitsabwehr beim jungen Kalb 12

Veränderungen des Gesamteiweißgehaltes und des Hämatokrits im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen 14

Bisher übliche Methoden zur Ermittlung des Gammaglobulingehaltes beim Kalb 16

Neuer radialer Immundiffusion - Fertigtest zur IgG_1-Messung im Kälberblut 19

Normalwerte zu den in den eigenen Untersuchungen gemessenen Blutparametern 20

EIGENE UNTERSUCHUNGEN 22

Material und Methodik 22

Krankengut 22

Ermittlung des klinischen Befundes 22

Probenentnahme 23

Bestimmungsmethoden 23

Versuchsanordnung 27

Ergebnisse 29

Ergebnisse der Richtigkeits- und Präzisionskontrolle des Testes 29

Ergebnisse der Prüfung des Zeiteinflusses auf die ermittelten IgG_1-Werte 31

Ergebnisse der Messung der IgG_1-Gehalte im Serum- bzw. Vollblut mittels des Testes 33

Vergleich der Ergebnisse der Elektrophorese und des radialen Immundiffusionstestes 35

Ergebnisse der Untersuchungen an Durchfallkälbern: 38

Altersverteilung der Versuchskälber und die Krankheitsdauer laut Vorbericht 38

Klinische Beurteilung des Grades der Exsikkose 39

Ergebnisse der Blutuntersuchungen auf IgG_1-Gehalt und weitere Blutparameter bei an Druchfall erkrankten Kälbern 41

Beziehung zwischen Gesamteiweißgehalt und IgG_1-Gehalt bei an Durchfall erkrankten Kälbern 44

Ergebnisse der gemessenen Blutparameter der Diarrhoe-Kälber unter Berücksichtigung der klinisch feststellbaren Exsikkose 45

Letalitätsrate der Durchfallkälber in Beziehung zu den gemessenen Blutparametern sowie dem Grad der feststellbaren Exsikkose 48

Aussagekraft des radialen Immundiffusionstestes in Hinsicht auf die Prognose bei Durchfallkälbern 53

DISKUSSION 57

ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY 66

LITERATURVERZEICHNIS 70

LEBENSLAUF 86

Einleitung

Kälberkrankheiten haben nach wie vor allerorten große wirtschaftliche Bedeutung. Die Krankheitsanfälligkeit und damit auch das Infektionsrisiko der Kälber ist dabei in erster Linie vom jeweiligen Immunstatus abhängig.

Quantitative Immunglobulinbestimmungen haben in jüngster Zeit zunehmend an Bedeutung gewonnen. Da diese Immunglobulinbestimmungen jedoch an technisch aufwendige Laboreinrichtungen gebunden sind, wurden sie bislang in der tierärztlichen Praxis nur in Ausnahmefällen durchgeführt.

Seit einiger Zeit steht nun von der Firma Cherwell Laboratories, Bicester, England, ein einfacher radialer Immundiffusionstest zur Bestimmung des IgG_1-Gehaltes beim Kalb im Serum und Vollblut zur Verfügung.

In folgender Arbeit sollte dieser Plattentest auf seine Richtigkeit und Präzision geprüft und sein praktischer Einsatz bei an neonataler Diarrhoe erkrankten Kälbern erprobt werden.

SCHRIFTTUM

Charakteristika der bovinen Immunglobuline

Immunglobuline sind komplexe Glykoproteine mit Antikörper-Aktivität. Sie werden in Plasmazellen oder deren Vorläufern als spezifische Antwortreaktionen auf artfremd erkanntes Material gebildet.
Die Immunglobuline sind fähig Antigene spezifisch zu binden und besitzen gemeinsame physikalisch-chemische Eigenschaften (TIZARD, 1977; PETZOLDT, 1977).

Die Antikörper kommen in mehreren Körperflüssigkeiten vor, wobei die Konzentration im Blutserum am stärksten ist.
Die Struktur eines Antikörpers ist ein Mono-, Di- oder Polymer der Grundeinheit, die für alle Immunglobuline prinzipiell gleich ist. Sie besteht aus zwei "schweren" H-Ketten und zwei "leichten" L-Ketten von Aminosäuren. Die Ketten werden untereinander durch vier Disulfidbrücken in einer Y-ähnlichen Struktur zusammengehalten. Jede Kette hat einen konstanten und einen variablen Teil. Der variable Teil bindet die Antigene. Dessen antigene Eigenart wird wesentlich von der Aminosäuresequenz bestimmt. Der andere Teil der Kette besitzt biologische Eigenschaften, wie z.B. die Fähigkeit zur Komplement- oder Makrophagenbindung. Durch den Typ der schweren H-Kette werden die verschiedenen Immunglobulinklassen definiert. In ihrer Funktion sind die Antikörperklassen immunologisch spezialisiert.
Das Rind hat drei deutlich identifizierte Immunglobulinklassen: IgG, IgM und IgA (BUTLER, 1971; TIZARD, 1977); wahrscheinlich kommen bei dieser Tierart auch Immunglobuline der Klasse E vor (BUTLER, 1973).

Immunglobulin G ist bei allen Spezies das am häufigsten vertretene Immunglobulin. Beim Rind wurde ein IgG-Anteil von 70-75% der gesamten Immunglobuline gemessen (BUTLER, 1969). Das IgG-Molekül ist ein Monomer des Grundmodells und damit das kleinste Immunglobulin. Wegen seiner geringen Größe kann das IgG die Kapillarwände durchdringen und in Geweberäumen und auf Körperoberflächen einen Immunschutz gewährleisten (TIZARD, 1977).
Nach von FELLENBERGER (1978) zirkulieren im Blut nur 40% des gesamten IgG-Anteils, während 60% in den Gewebeflüssigkeiten verteilt sind.

IgG ist an den meisten Reaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern beteiligt. Es wirkt antitoxisch, neutralisiert Mikroben und ist auch zur Präzipitation und Agglutination fähig (BUTLER, 1969; TIZARD, 1977). IgG wird beim Rind in zwei Subklassen unterteilt: IgG_1 und IgG_2. Sie unterscheiden sich in ihrer biologischen Reaktion gegenüber Antigenen und wandern elektrophoretisch mit unterschiedlicher Geschwindigkeit (BUTLER, 1969; AALUND et al., 1971).
Im Serum des adulten Rindes macht das IgG_1 einen Anteil von ca. 50% des gesamten IgG aus (BUTLER, 1971).

Immunglobulin M ist das größte Immunprotein und kommt hauptsächlich intravaskulär vor (TIZARD, 1977; PETZOLDT, 1977). Normalerweise tritt IgM nicht in Körperflüssigkeiten über. Es besteht aus einem fünffachen Polymer der Grundeinheit und kann wegen der Mehrzahl von antigenbindenden Stellen immunologisch sehr effektiv reagieren. Nach Stimulierung durch ein Antigen steigt der Spiegel von IgM im Blutserum rasch an. Wegen der kürzeren Halbwertzeit von 5 Tagen klingt der Titer jedoch schnell wieder ab. Außer an der primären Immunantwort ist IgM auch an Komplementbindung und Agglutination beteiligt.

IgM wird von mehreren Verfassern als das Hauptimmunglobulin im humoralen Immunschutz gegenüber neonatalen Coli-Septikämien angesehen (LOGAN und PENHALE, 1971 b). Nach Berechnungen von BUTLER (1969) liegt der IgM-Anteil im Kälberblut unter 10% der gesamten Immunglobulinmenge.

Immunglobulin A kommt im Serum von Rindern in sehr geringer Menge vor. Es ist aber das wichtigste Immunglobulin in den Sekreten des Körpers, z.B. im Speichel, in der Tränen-, Nasen- und Luftröhrenflüssigkeit sowie im Darmsekret und hat auf den Schleimhäuten eine wichtige lokale Schutzfunktion.
IgA wird in der Submukosa gebildet und tritt meistens als Dimer oder Trimer auf. Bei der Passage durch die Epithelzellen verbindet sich IgA mit der "Sekretorischen Komponente". In dieser s-IgA-Form ist das Globulin vor proteolytischen Enzymen in den Sekreten geschützt. Der größte Teil des IgA in Kolostrum und Darmsekret besteht aus sekretorischem IgA. Das Immunglobulin A neutralisiert gewisse Virus- und Bakterienenzyme und verhindert wahrscheinlich die Anheftung von Antigenen an der Schleimhaut sowie von enteropathogenen E. coli-Stämmen im Darm (TIZARD, 1977).

Das Immunsystem des Rinderfoetus

Das Immunsystem entwickelt sich foetal bei Wiederkäuern sehr früh (SCHULTZ, 1973 b). Schon in ersten Drittel der Trächtigkeit sind immunkompetente Zellen vorhanden (OSBURN, 1973). Nach einem Antigenreiz reagieren die Plasmazellen mit Bildung von Antikörpern. SCHULTZ et al. (1971) konnten nach einer experimentellen Infektion foetales Serum-IgM ab dem 130. Trächtigkeitstag feststellen, während IgG ab dem 145. Tag nachzuweisen war. IgA wird dagegen im Foetus nicht gebildet.

Der Plazentatyp des Rindes ermöglicht keine intrauterine Übertragung von mütterlichen Antikörpern auf den Foetus. Die von mehreren Untersuchungen festgestellten kleinen, aber meßbaren Immunglobulingehalte neugeborener Kälber sind daher durch eine intrauterine Infektion und foetale Eigensynthese von Antikörpern zu erklären (KLAUS et al., 1969; SAWYER et al., 1973; RISTEDT, 1980; von SCHWARTZ, 1980). Als antigene Stimuli im Uterus können Viren, Bakterien oder mütterliche Blutzellen wirken (SCHULTZ, 1973 b).

Die Vorgänge bei der Sekretion sowie die Konzentrationen kolostraler Immunglobuline

Das Kolostrum wird im trockenstehenden Kuheuter in den letzten Trächtigkeitswochen gebildet. Es setzt sich aus Milchdrüsensekret und aus Komponenten zusammen, die vom maternalen Blut übertreten. Ein großer Teil des Eiweißes tritt als Transsudat aus dem Serum des Muttertieres über. Auch Mineralstoffe, Spurenelemente und Vitamine stammen vom Mutterblut und werden im Euter angereichert (KIELWEIN, 1976). Das Kolostrum unterscheidet sich in verschiedener Hinsicht von der später sezernierten Milch (KOLB, 1967). Der Eiweißgehalt ist mit ca. 12 - 15 g pro 100 ml Biestmilch im Vergleich zu dem von 3-4g pro 100 ml normaler Milch deutlich erhöht. Mehr als die Hälfte der kolostralen Proteine besteht aus Immunglobulinen. Im Vergleich mit normaler Milch bedeutet das eine 75- bis 100-fache Anreicherung des Immunglobulingehaltes (SENFT et al., 1964; LIBERG, 1976). Alle Antikörper der Klasse G, der größte Teil von IgM und die Hälfte des IgA werden direkt aus dem mütterlichen Blutserum durch einen selektiven Transportmechanismus ins Euter überführt und im Kolostrum konzentriert (BUTLER, 1969; PORTER, 1972; TIZARD, 1977). Der übrige Anteil der Antikörper wird lokal im Eutergewebe gebildet (BUTLER, 1969; PORTER, 1972).

IgG ist das quantitativ wichtigste Immunglobulin im Kolostrum. Im Gegensatz zu den anderen Tierarten wie auch zum Menschen bleibt beim Rind das IgG während der fortschreitenden Laktation der dominierende Milchantikörper. Bei den anderen Spezies übernimmt das IgA diese Rolle.
IgG_1 wird selektiv aktiv ins Euter transportiert, während IgG_2 passiv übertritt (BRANDON et al., 1971; SASAKI et al., 1976). Im Kolostrum bestehen 90% der Immunglobulin-Gruppe G aus IgG_1. Im Laufe der späteren Milchproduktion reduziert sich dieser IgG_1-Anteil deutlich und der prozentuale Anteil an IgG_2 nimmt zu.

Mehrere Faktoren beeinflussen die Qualität und Quantität des Kolostrums.Die gebildete Menge und Konzentration der Immunglobuline sind voneinander unabhängig (KRUSE, 1970; LOGAN, 1977). Deutliche individuelle Variationen im kolostralen Immunglobulingehalt innerhalb einer Rasse sind nachgewiesen (LOGAN, 1977; DAROILLAT et al., 1978; STOTT et al., 1981). Von rassebedingten Unterschieden (KRUSE, 1970; MULLER und ELLINGER, 1981) sowie von verschieden hohen Immunglobulintitern bei Kalbinnen und älteren Kühen (LAMBRECHT, 1982) wird berichtet.

Einen weiteren Einfluß auf die Kolostrumqualität hinsichtlich des Immunglobulingehaltes nimmt die jahreszeitlich unterschiedliche Fütterung (MITSCHERLICH, 1977; ESCHER, 1979; LAMBRECHT, 1981). Die höchsten Antikörpergehalte des Kolostrums treten in den Herbstmonaten und die niedrigsten im Frühjahr auf. Entsprechend wirken sich diese jahreszeitlichen Schwankungen auch auf die Serumglobulinkonzentrationen des Kalbes aus (McEWAN et al., 1970 a).

Nach der Kalbung sinkt der kolostrale Antikörpergehalt rapide ab. Bereits 24 Stunden post partum sind im Kolostrum nur noch 70-80% der anfangs vorhandenen Antikörpermenge meßbar. Nach 4 Tagen sind nur noch 2 - 3% des ursprünglich postpartalen Immunglobulingehaltes vorhan-

den (PORTER; 1972; LOMBA et al., 1978; STOTT et al., 1981). Bei jedem Melkvorgang im 12 Stunden-Intervall muß - grob geschätzt - mit einer 50-prozentigen Senkung der Antikörperkonzentration gerechnet werden. Die rapide Senkung des Immunglobulinspiegels gilt auch für das Sekret in Eutervierteln, die nicht gemolken werden (LOMBA et al., 1978; STOTT et al., 1981).

Die Resorption der Immunglobuline beim neugeborenen Kalb

Die oral aufgenommenen Immunglobuline werden im Duodenum, Jejunum und Ileum des Kalbes resorbiert. Die intakten Antikörpermoleküle werden mittels Pinozytose durch die Epithelzellen in das Lymphsystem transportiert und gelangen weiter in den Blutkreislauf (FEY, 1967; BRAMBELL, 1970; LOGAN, 1974). Die Resorption ist beim Rind unspezifisch und schließt alle Immunglobulinklassen wie auch andere großmolekuläre Komponenten ein (TIZARD, 1977; STOTT et al., 1979). Die drei Immunglobulinklassen erscheinen zu verschiedenen Zeitpunkten im Serum der mit Kolostrum gefütterten Kälber. Ein bis zwei Stunden nach der Tränkeaufnahme kann IgG gemessen werden; später erscheinen IgM und IgA (LOGAN et al., 1978). Maximale IgG-Gehalte finden sich im Kälberserum nach 16 Stunden, während IgM erst nach 24 Stunden und IgA nach 48 Stunden post partum ihre Konzentrationsmaxima erreichen (LOGAN et al., 1978).

Die maximale Konzentration des Gehaltes an maternalen Immunglobulinen wird im Kälberserum 24 Stunden nach der Geburt gemessen und sinkt bis zum Alter von zwei bis vier Wochen wieder ab (HUSBAND et al., 1972; von SCHWARTZ, 1980). Die Halbwertzeit beträgt für IgG 20 Tage, für IgM 4 Tage und für IgA 2 Tage (PORTER, 1972). Der folgende Anstieg des Antikörpertiters ist Ausdruck einer aktiven Eigensynthese von IgG und IgM. IgA bleibt im Serum stabil auf einem relativ niedrigen Niveau.

Die Fähigkeit des neugeborenen Kalbes zur Resorption von Immunglobulinen ist zeitlich stark begrenzt und hängt vom Altern der resorptiven Darmepithelzellen ab. LOGAN et al. (1973) erkannten eine zeitlich unterschiedliche Resorptionsdauer für die drei Immunglobulinklassen. STOTT et al. (1979) konnten diese Ergebnisse allerdings nicht bestätigen. Die resorptive Zeitspanne hängt vom Zeitpunkt der ersten Kolostrumaufnahme ab. Rechtzeitige Biestmilchgabe verschließt die Darmwand früher für die Antikörperpassage. In den umfangreichen Studien von STOTT et al. (1979) konnten bei allen Kälbern mit einer Kolostrumaufnahme in den ersten 12 Lebensstunden meßbare Serumgehalte sämtlicher Antikörperklassen nachgewiesen werden. Ein ausreichender Immunglobulinspiegel im Serum des Kalbes hängt entscheidend von der absoluten Menge der aufgenommenen Immunglobuline und vom Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme ab (STOTT et al., 1979). Eine A- bzw. Hypogammaglobulinämie der Kälber entsteht daher eher durch fehlerhafte Kolostrumgabe als durch resorptive Unfähigkeit der Darmepithelzellen. Nach Berechnungen von STOTT et al. (1979) braucht das Kalb ca. 2 Liter Erstkolostrum-Tränke innerhalb der ersten vier Lebensstunden, um einen optimalen Antikörper-Serumtiter zu bilden.

Neben der humoralen Immunität spielt aber gegenüber Rota- und Coronaviren und enteropathogenen Colikeimen insbesondere die lokale Immunität eine wesentliche Rolle. WOODE et al. (1975) und HARTMANN (1981) wiesen nach, daß die Antikörperspezifität an der Oberfläche der Darmschleimhaut große Bedeutung zur Abwehr der Infektion mit Rota- und Coronaviren sowie mit enteropathogenen Kolikeimen hat. Eine weitere Biestmilchgabe, auch nach abgeschlossener Darmpassage,ist daher nicht unwesentlich. Voraussetzung für eine derartige passive Immunität ist aber ein hoher spezifischer Antikörpertiter im Kolostrum. Da beispielsweise der Rotavirus-Antikörpertiter im Kolostrum innerhalb der ersten 2 bis 3 Tage post partum rapide abfällt, ist ein ausreichender Infektionsschutz

auch nach weiterer Biestmilchgabe nicht mehr gewährleistet (WOODE und BRIDGER, 1976; SNODGRASS und WELLS, 1978). WOODE et al. (1975) empfahlen daher zur Verbesserung des lokalen Infektionsschutzes überschüssiges Erstkolostrum einzufrieren und während der ersten zwei Lebenswochen portionsweise zuzufüttern.
Eine Möglichkeit,den spezifischen Milchantikörper-Gehalt zu stimulieren und eine verlängerte Ausscheidung zu erreichen, bietet die parenterale Vakzination der Muttertiere mit einem entsprechenden Rota-Coronavirus-Impfstoff (SNODGRASS et al., 1980; HESS et al., 1982; KUNZ, 1982).

Die Bedeutung der humoralen Immunglobuline für die Krankheitsabwehr beim jungen Kalb

Da das Kalb a- oder hypogammaglobulinämisch geboren wird, ist es auf eine passive Immunisierung angewiesen. Das Kolostrum stellt hierfür eine natürliche Quelle dar, nicht nur als Nahrungsmittel, sondern auch als Träger maternaler Antikörper. Die Zufuhr mütterlicher Gammaglobuline ist daher unumstritten von größter Bedeutung für die Gesundheit neugeborener Kälber. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigen sich mit der Beziehung zwischen Serumkonzentration der Antikörper und Sterblichkeitsrate der Kälber. Niedrige Gammaglobulin-Konzentrationen werden von mehreren Verfassern als prädisponierende Faktoren bei neonatalen Erkrankungen und Todesfällen angesehen. So fanden z.B. FISCHER et al. (1968) bei 90% der an E. coli-Septikämie gestorbenen Kälbern Gammaglobulin-Konzentrationen von weniger als 8 g pro Liter Serum. Kälber mit Serumkonzentrationen über 20 g/l erkrankten dagegen nicht. In einer Untersuchung, die McGUIRE et al. (1976) durchführten, lag die IgG_1-Serum-Konzentration bei 85% der Kälber, die an infek-

tiösen Erkrankungen verendeten, unter dem Normalbereich. Mehrere Autoren schreiben dem Gammaglobulintiter im Blut zwar eine Schutzfunktion gegenüber der Coli-Septikämie, nicht aber gegen Durchfallerkrankungen zu (GAY et al., 1965; LOGAN und PENHALE, 1971 a; FALLON, 1978).

Ein positiver Einfluß der passiv erhaltenen Immunität auf die Morbidität der neonatalen Diarrhoe wird dagegen von PENHALE et al. (1970), McEWAN et al. (1970 a), THORNTON et al. (1972), BOYD (1972), FISCHER et al. (1975) und FISCHER und MARTINEZ (1978) beschrieben.

PENHALE et al. (1970) untersuchten die Bedeutung der Immunglobulinklassen G bzw. M im Hinblick auf das Überleben der Tiere. Dabei scheint IgM die Immunkomponente zu sein, die in der Prophylaxe der Coli-Sepsis die Hauptrolle spielt. Bei anderen Untersuchungen zeigte sich jedoch, daß der Gammaglobulingehalt nicht der alleinige Indikator für die Überlebenschancen eines Tieres ist. So haben MAYR et al. (1965) in Feldversuchen nachgewiesen, daß Kälber trotz hohen Immunglobulingehaltes eine tödliche Coli-Sepsis erlitten.

ESCHER (1979) konnte keine Unterschiede der IgG- und IgM-Konzentrationen bei gesunden, leicht und schwer erkrankten Kälbern feststellen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch LOMBA et al. (1978), die keine Beziehung zwischen dem Serumglobulingehalt und der Krankheitsrate bei den an Durchfall oder Pneumonie erkrankten Kälbern fanden.
So hängt die Auswirkung eines Immunglobulinindefizits auf das neugeborene Kalb von Art und Umfang der Infektion sowie von der Spezifität der absorbierten Antikörper ab (KOLB, 1979). Obwohl die Kolostrumaufnahme die Grundvoraussetzung für das Überleben ist, hängt ihre Schutzwirkung natürlich auch von der Stallhygiene, dem Keimmilieu, der Witterung, der Fütterung und anderen Umweltfaktoren ab (MARSCHANG, 1982).

Veränderungen des Gesamteiweißgehaltes und des Hämatokrits im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen

Der Gesamteiweißgehalt bei gesunden Kälbern ist vom Alter des Tieres abhängig (STÖBER und GRÜNDER, 1977). Die deutliche Erhöhung des Serum-Proteingehaltes in den ersten drei Lebenstagen des Kalbes ist eine direkte Folge der Resorption maternaler Antikörper (RISTEDT, 1980). Nach einer geringen Senkung während der zweiten Lebenswoche steigt der Gesamteiweißgehalt bis zur achten Lebenswoche wieder an (von SCHWARTZ, 1980). Die positive Beziehung zwischen den Gehalten an Gesamteiweiß und Immunglobulinen besteht in den ersten zwei Lebenswochen (REID und MARTINEZ, 1975; LORENZANA, 1979; von SCHWARTZ, 1980).

Bei Durchfallerkrankungen führt die Austrocknung infolge von Flüssigkeitsverlust zu Konzentrationsänderungen verschiedener Blutbestandteile (STÖBER und GRÜNDER, 1977). Der erhöhte Gesamteiweißgehalt im Anfangsstadium einer schweren Enteritis wird durch erniedrigtes Plasmavolumen erklärt (TENNANT et al., 1978). Der Gehalt an Gesamteiweiß ist jedoch kein zuverlässiges Kriterium der Dehydration beim Kalb, weil individuell unterschiedliche Serum-Proteinkonzentrationen als Ausdruck eines geringen Gehaltes an Serum-Immunglobulin schon vor der Erkrankung vorliegen können (ROUSSELL, 1983). Ein exsikkotisches, hypogammaglobulinämisches Kalb kann deswegen normale oder subnormale Gesamteiweißtiter aufweisen.
THORNTON et al. (1972) fanden bei Durchfallkälbern unveränderte Serum-Proteingehalte. Dies erklären die Autoren mit erhöhten Albumin- bzw. Alpha-Globulingehalten als Folge der Hämokonzentration und gleichzeitig einer Senkung des Gammaglobulingehaltes.
Ein vermehrter Verlust an Serumprotein durch den Darm bei Durchfallzuständen sowie eine verminderte Resorption der zugeführten Milchproteine wurde bereits 1969 von MASCH et al. nachgewiesen.

Erhöhte Proteinausscheidung als immunologischer Austritt der Serum-Immunglobuline in den Darm wurde von FISCHER et al. (1976) beschrieben.

Die Veränderung der Blutzusammensetzung bei Dehydration ist meistens auch an dem ansteigenden Hämatokritwert und dem erhöhten Gehalt an Hämoglobin zu erkennen (STÖBER und GRÜNDER, 1977). Da der Hämatokrit bei gesunden Kälbern schwankt (SCHULTZ et al., 1971 a), kann die Erhöhung des Hämatokritwertes als Folge der Dehydration nur mit Kenntnis des Ausgangswertes vor der Erkrankung sicher beurteilt werden. So fanden TENNANT et al. (1978) bei deutlich exsikkotischen Durchfallkälbern Hämatokritwerte innerhalb des Normalbereiches. Bei an Enteritis erkrankten Tieren ist die Hämatokrit-Bestimmung als Kriterium des Austrocknungsgrades nur mit anderen klinischen Befunden sinnvoll (KLEE et al., 1979).

Bisher übliche Methoden zur Ermittlung des Gammaglobulingehaltes beim Kalb

Zur Ermittlung des Gammaglobulingehaltes im Kälberblut steht eine Vielzahl von Meßmethoden zur Verfügung. Jedes Testprinzip beruht auf bestimmten immunologischen oder biologischen Eigenschaften der Immunglobuline. Die Methoden unterscheiden sich zum Teil deutlich im labortechnischen Aufwand sowie in der Meßgenauigkeit. Die Wahl des Verfahrens hängt vom gewünschten Meßziel und der Laborausrüstung ab.
Für Praxisbedingungen kommen nur Verfahren in Frage, die ohne größeren Aufwand mit ausreichender Genauigkeit den Gammaglobulingehalt ermitteln lassen.

Refraktometrie: Mittels refraktometrischer Bestimmung wird der gesamte Eiweißgehalt im Serum gemessen. Der markante Anstieg der Proteinkonzentration im Blut des Neugeborenen spiegelt die Gammaglobulinresorption wieder. Vorausgesetzt, daß die übrigen Serumproteine, vor allem die Albumine niveaumäßig konstant bleiben, ist die Refraktometrie ein brauchbarer Schnelltest für die indirekte Messung des Immunglobulingehaltes beim Kalb (McBEATH et al., 1971; LORENZANA, 1979; von SCHWARTZ, 1980).
Die Albuminwerte im Blut variieren jedoch nach Untersuchungen von SCHULTZ et al. (1971 a) zwischen 1,9 - 3,4 g/dl bei 1 bis 5 Tage alten Kälbern. Diese Tatsache begrenzt den Aussagewert der refraktometrischen Messung vor allem bei hypogammaglobulinämischen Tieren (PFEIFFER et al., 1977).
Für Proteinbestimmungen bei Kälbern mit Darmkrankheiten ist die Methode aufgrund der Hämokonzentration sowie der Proteinverluste mit nachfolgenden Verschiebungen im Eiweißbild nicht empfehlenswert (McBEATH et al., 1971; NAYLOR und KRONFELD, 1977).

Glutaraldehydtest: Alkalische Proteine, z.B. Gammaglobulin und Fibrinogen, bilden mit Glutaraldehyd ein Koagulum. Die Koagulationszeit nach Zusatz einer standardisierten Glutaraldehydlösung zu einer Serumprobe kann daher zur semiquantitativen Messung des Gammaglobulinniveaus dienen (SANDHOLM, 1974). Mit Hilfe des Testes lassen sich in der Praxis relativ einfach und billig, aber sehr grob, die hypogammaglobulinämischen Kälber erkennen (TENNANT et al., 1979).

Zinksulfat-Trübungstest: Immunglobuline bilden mit Zinksulfat ein sichtbares Präzipitat. Im Spektrophotometer wird die Trübung des Präzipitates als Abschwächung des durchfallenden Lichtes gemessen (McEWAN et al., 1970 b).

Der Zinksulfat-Trübungstest ist eine relativ einfache und billige Bestimmungsmethode für den totalen Immunglobulingehalt des Kälberserums. Aus labortechnischen Gründen ist die Anwendung in der Praxis nur begrenzt möglich. Hämolytische Seren können die Werte verfälschen und höhere Gehalte vortäuschen (McEWAN et al., 1970 b; PFEIFFER et al., 1977).

Elektrophorese: Die Elektrophorese (von gr. phorésis=das Tragen) ist eine Trennungstechnik zur Identifikation der Proteine in einer Lösung. Das elektrophoretische Prinzip beruht auf der elektrostatischen Ladung hochmolekularer Partikel mit darauffolgender Bewegung in einem elektrostatischen Spannungsfeld. Aufgrund der für jedes Eiweiß charakteristischen Aminosäurestruktur und der damit zusammenhängenden elektrischen Ladung, wandern die Proteine in der Elektrophorese mit verschiedenen Geschwindigkeiten.
Die Serumproteine sind im alkalischen Milieu negativ geladen und bewegen sich in Richtung zur Anode. Das Albumin wandert am schnellsten, gefolgt von den Globulinen in der Reihenfolge: Alpha-, Beta- und Gammafraktion.

Als Trägermaterial dienen Filterpapier oder halbfeste Medien wie Zelluloseacetat, Stärkegel oder Polycryamid. Nach Färbung des Mediums erscheinen die Proteinfraktionen als Farbbänder und können mittels Spektrophotometrie quantitativ bestimmt werden. Bei der Elektrophorese eines Rinderserums sind die Immunglobuline zum größten Teil im Gammaglobulinbereich zu finden. Eine kleinere Menge wandert in die ß-Globulinfraktion ein, hauptsächlich Antikörper der Klassen A und M (BUTLER, 1969).

Einfache radiale Immundiffusion (RID): Das grundlegende Prinzip der Präzipitatbildung zwischen Antigenen und Antikörpern nach Diffusion in einem Agargel wurde von OUCHTERLONY (1949) beschrieben. FEINBERG (1957) und später MANCINI et al. (1965) arbeiteten den einfachen radialen Immundiffusionstest zu einer Methode zur quantitativen Bestimmung der Immunkomponenten aus.

Spezifische Antikörper werden in Agargel gleichmäßig eingemischt. Von den ausgestanzten Agarflächen diffundieren die deponierten Antigene radial in die Umgebung und bilden mit den homologen Antikörpern einen sichtbaren weißen Präzipitatring.
Nach abgeschlossener Diffusion ist der Durchmesser der weißen Zone direkt proportional zu der Antigenmenge der Probe und umgekehrt proportional zu der Antikörperkonzentration im Agar (MANCINI et al., 1965). Mit bekannten Antigenkonzentrationen in den Vergleichsproben kann eine Eichkurve erstellt werden.

Faktoren wie Größe des Stanzloches, einpipettierte Probenmenge, Diffusionszeit oder Inkubationstemperatur haben im standardisierten Verfahren keinen Einfluß auf das Resultat. Infolgedessen können die Ergebnisse schon vor der vollständigen Diffusion abgelesen und logarithmisch ausgerechnet werden (FAHEY und McKELVEY, 1965).

Bei Serum-Immunglobulinuntersuchungen wird die Inkubationszeit nach dem Molekulargewicht gewählt. Die großen IgM-Globuline wandern im Agar langsamer als IgG, das ein geringeres Molekulargewicht hat. Der RID-Test hat eine hohe Empfindlichkeit. FAHEY und McKELVEY (1965) konnten in ihren Versuchen Konzentrationen bis 0,003 g/l messen. Den Meßfehler der Methode geben sie mit ± 10% an. Den Korrelationskoeffizienten zwischen RID und Elektrophoresebestimmung berechnet LORENZANA (1979) mit 0,8363.

Neuer radialer Immundiffusion-Fertigtest zur IgG_1-Messung im Kälberblut

Auf dem einfachen radialen Immundiffusionsprinzip entwickelten PRIOR und PORTER (1980) ein modifiziertes Verfahren für die Messung des Immunglobulinniveaus beim Kalb. Hierbei werden fertige RID-Platten (sog. Calf Colostrum Ig Status-Plates, Firma Cherwell Laboratories Ltd., Bicester, England) verwendet. Der Plattentest ist für die Messungen unter Praxisbedingungen geeignet. So wurde es möglich, auf relativ einfache Art und Weise eine Vorstellung vom Niveau der übertragenen maternalen Immunglobuline im Blut von jungen Kälbern zu erhalten. Bei diesem Test wird spezifisch der Gehalt an bovinem IgG_1 quantitativ gemessen. Ein wesentlicher Vorteil dieser Methode liegt darin, daß dabei erstens Vollblut verwendet werden kann und zweitens davon nur 3-5 µl erforderlich sind. Dadurch ist man von teuren Laborgeräten unabhängig und kann nach der Blutentnahme die Untersuchung direkt vor Ort vollziehen. Mit dieser einfach zu handhabenden Methode gelang es PRIOR und PORTER (1980) 40 Kälberblutproben innerhalb einer Stunde zu analysieren.

Die Autoren untersuchten eine größere Anzahl von Kälbern im Alter von 7 Tagen. Der Test wurde als gut geeignet für die tierärztliche Praxis bezeichnet.

Normalwerte zu den in den eigenen Untersuchungen gemessenen Blutparametern

In den später aufgeführten eigenen Untersuchungen bei Kälbern im Alter bis zu 14 Tagen wurden Hämatokrit, Gesamteiweiß-, Albumin-, Gammaglobulin- und IgG_1-Gehalte gemessen.
Die in der Literatur angegebenen Normalwerte dieser Blutparameter differierten zum Teil erheblich und hängen auch stark vom Alter des Tieres ab. In der nachfolgenden Übersicht sind einige Literaturhinweise zu den Normalgrenzen in Abhängigkeit vom Alter des Tieres zusammengefaßt.

Altersgruppe	Angegebene Normalwerte für gesunde Tiere	Autor
HÄMATOKRIT:	%	
Kalb	22 - 44	Deutsche Vet. Med. Gesellschaft (1976)
1-8 (d)	37 ± 7,6	NAYLOR und KRONFELD (1977)
Rind	30 - 40	STÖBER und GRÜNDER (1977)
Kalb	25 - 43	TENNANT et al. (1978)
1-14 (d)	17 - 47	LUMSDEN et al. (1980)
GESAMTEIWEIß:	g/dl	
6-10 (d)	5,7	THORNTON et al. (1971)
Rind	5 - 6	STÖBER und GRÜNDER (1977)
1-14 (d)	3,9 - 7,0	LUMSDEN et al. (1980)

Altersgruppe	Angegebene Normalwerte für gesunde Tiere	Autor
ALBUMIN:	g/dl	
1-8 (d)	1,9 - 3,4	SCHULTZ et al. (1971)
6-10 (d)	2,3	THORNTON et al. (1971)
2-7 (d)	1,8	McGUIRE et al. (1976)
Rind Kalb	3 - 4 3,6	STÖBER und GRÜNDER (1977)
1-14 (d)	2,2 - 3,3	LUMSDEN et al. (1980)
GAMMAGLOBULIN:	g/dl	
1-6 (d)	1,3	THORNTON et al. (1971)
Rind Kalb	1,9 - 2,5 1,4	STÖBER und GRÜNDER (1977)
3 (d)	1,3 $\pm$ 0,5	BERGER (1979)
1-14 (d)	0,05 - 1,2	LUMSDEN et al. (1980)
7 (d) 14 (d)	1,1 0,9	von SCHWARTZ (1980)
IgG_1:	g/dl	
4 (d)	1,4	HUSBAND et al. (1972)
7 (d)	1,2	HUSBAND et al. (1972)
14 (d)	1,0	HUSBAND et al. (1972)
1-8 (d)	1,1	NAYLOR und KRONFELD (1977)

E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

MATERIAL UND METHODIK

Krankengut

Die Untersuchungen erfolgten an 54 Kälbern, die während der Zeit von Mitte Oktober 1982 bis Mitte April 1983 wegen Durchfalls in die II. Medizinische Tierklinik der Universität München als Patienten eingeliefert wurden. Die Kälber stammten aus landwirtschaftlichen Betrieben des Einzugsgebietes der Klinik. 52 Tiere gehörten zur Rasse Deutsches Fleckvieh und 2 Tiere zur Rasse Deutsche Schwarzbunte. Die 30 männlichen und 24 weiblichen Kälber waren bei der Einlieferung bis zu 14 Tage alt. Die Patienten waren unterschiedlich lange Zeit erkrankt, auch wurden sie vor der Einlieferung in verschiedener Weise mit Medikamenten behandelt.

Ermittlung des klinischen Befundes

Für den Versuch wurden nur diejenigen Kälber ausgewählt, bei denen sowohl nach den vorberichtlichen Angaben als auch nach klinischen Symptomen auf eine Magen-Darmerkrankung als Hauptursache der Erkrankung geschlossen werden konnte. Der Besitzer des Tieres wurde nach der Dauer der Erkrankung befragt. Als Kriterium wurde das erste Auftreten bzw. die erste Beobachtung des Durchfalls angegeben.

Nach der Einstallung in die Klinik wurden die Kälber einer klinischen Untersuchung unterzogen. Besonderes Augenmerk wurde bei der Untersuchung auf das Allgemeinbefinden, auf die Kotbeschaffenheit und den Grad der eventuellen Exsikkose gelegt.

Der klinische Verlauf der Krankheit wurde ständig tierärztlich kontrolliert. Bei den Kälbern, die überlebten,

wurden frühestens vier Wochen nach ihrer Entlassung aus der Klinik die Besitzer nach der Entwicklung der Tiere, insbesondere nach Durchfall-Rezidiven oder Auftreten anderer Erkrankungen, befragt.

Probenentnahme

In Zusammenhang mit der ersten klinischen Untersuchung wurde jedem Kalb aus der Vena jugularis Blut entnommen. Um Serum sowie Vollblut zu erhalten, wurde bei der Blutentnahme ein Röhrchen mit K-EDTA-Beschichtung und ein Röhrchen ohne gerinnungshemmenden Zusatz verwendet.

Die geronnene Blutprobe blieb mindestens 20 Minuten stehen und wurde anschließend zweimal jeweils 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Zentrifuge Hettich), um ein klares Serum zu gewinnen. Die Blutanalysen erfolgten innerhalb von 2-3 Stunden, mit Ausnahme der elektrophoretischen Bestimmung. Hierzu wurde eine kleinere Menge Serum für die spätere Verwendung bei -20°C eingefroren.

Bestimmungsmethode

Einfacher radialer Immundiffusionstest (RID): Es wurden der von Fa. Cherwell Laboratories Ltd., Bicester, England hergestellte radiale Immundiffusionstest (sog. "Calf Colostrum Ig Status-Plates") verwendet.

Nach Angaben des Herstellers besteht der Agar der RID-Platte aus einer Antiserum-Agarose-Mischung mit Zusatz von 0,1 M Barbitat-Puffer bei pH 8,6 und 0,1%-igem Natriumazid als Konservierungsmittel. Das Antiserum wird von Schweinen gewonnen, denen bovines IgG_1-Antigen injiziert worden ist. Das gewonnene Serum hat einen hohen Anteil an Anti-bovinen IgG_1-Antikörpern wie auch einen geringen Anteil an Anti-bovinen IgG_2-Antikörpern (PRIOR und PORTER, 1980).

Auf jeder RID-Platte befinden sich 12 ausgestanzte, gleich große Agarlöcher. Der Agar wurde durch einen Plastikdeckel geschützt. Dem Test ist eine Meßskala auf durchsichtigem Zelluloidfilm zur Bestimmung der Präzipitatdurchmesser sowie eine Standardkurve für die direkte Ablesung der Werte beigefügt (Abbildung 1 und 2).

Die kühl gelagerten RID-Platten wurden 15 Minuten vor der Anwendung auf Zimmertemperatur erwärmt. Nach Öffnung der umhüllenden Folie verflüchtigte sich das Kondenswasser auf dem Schalendeckel in wenigen Minuten.

Für die Untersuchung wurden mit einer Pipette (Firma Eppendorf) jeweils 5µl der Proben in die Stanzlöcher einpipettiert. Nach Verschluß blieben die Platten 24 Stunden bei Raumtemperatur zur Präzipitatbildung waagerecht liegen.

Die Konzentration konnte direkt anhand der mitgelieferten Kalibrationsgeraden festgestellt werden: Auf der Abszisse ist der Präzipitatdurchmesser aufgetragen und auf der logarithmisch eingeteilten Ordinate die entsprechende IgG_1-Menge abzulesen (Abbildung 2).

Für jede Charge von RID-Platten wird eine eigene Standardkurve mitgeliefert.

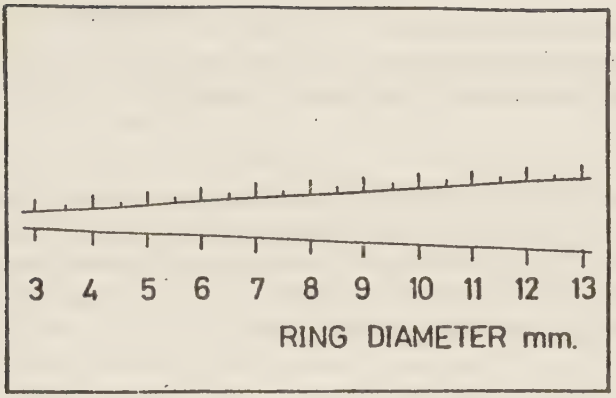

Abbildung 1: Dem RID-Test beigefügte Schablone zur Ablesung der Präzipitatdurchmesser.

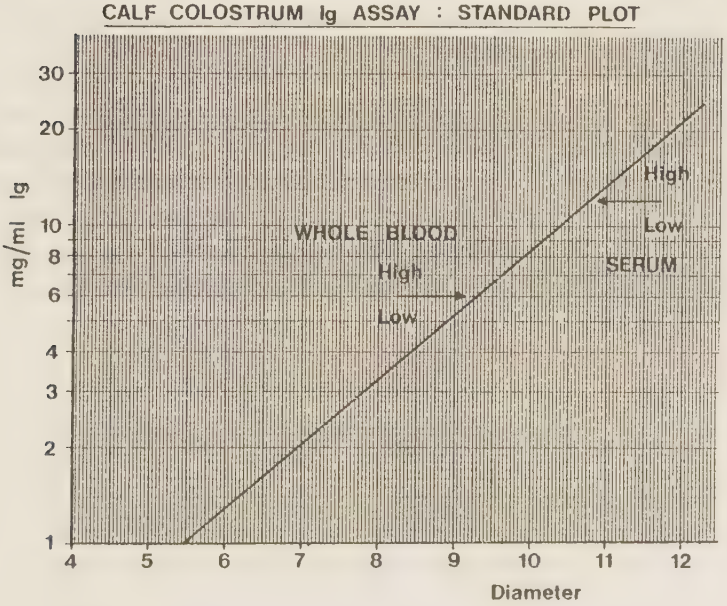

Abbildung 2: Standardkurve des RID-Testes zur Ermittlung der IgG_1-Konzentration aus den Präzipitatdurchmessern

Hämatokritbestimmung: Der Hämatokrit wurde nach dem Mikrohämatokritverfahren mittels der Microfuge (Firma Hettich) in üblicher Weise bestimmt.

Gesamteiweißbestimmung: Die Messung des Gesamteiweißgehaltes wurde mit der Biuretreaktion anhand "Test Combination Gesamteiweiß" der Firma Boehringer Mannheim (Best. Nr. 124281) durchgeführt und beruht auf der Methode von WEICHSELBAUM (1946).

Elektrophorese: Die Elektrophorese wurde mit Hilfe des von Firma Boskamp GmbH, Bornheim, entwickelten Gerätes zur Serum-Eiweiß-Elektrophorese auf Cellulose-Acetet-Folie durchgeführt. Das technische Verfahren der Bestimmung erfolgte anhand der in der Literatur beschriebenen Anweisungen (z.B. HALLMANN, 1980).

Zur Auswertung der Elekrophorese-Trennung diente Elscript 1 (Firma Hirschmann, Unterhaching), ein halbautomatisches Photometer mit eingebautem Rechner. Nach manuellem Eintragen der Fraktionsgrenzen berechnet das Gerät die Prozentwerte der Fraktionen und, nach Einspeichern der Gesamteiweißwerte, die absoluten Konzentrationen der einzelnen Fraktionen.

Versuchsanordnung

Qualitätsprüfung des radialen Immundiffusionstestes: Zur Prüfung der Richtigkeit des in der Untersuchung benutzten Fertigtestes wurden von der Firma Miles Laboratories, Elkhard, Indiana/USA, erhältliche Kontroll-Lösungen mit bekannten Konzentrationen des bovinen IgG_1 verwendet (Bovine IgG_1-Kits, Code Nr. 64-475-1). Die angegebenen Konzentrationen von IgG_1 lagen bei 35, 75, 150 und 300 mg/100 ml. Um verläßliche Werte zu erhalten, wurde die Bestimmung fünfmal wiederholt. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden. Erst danach erfolgte die Ablesung.

Die Präzisionskontrolle wurde "in der Serie", sowie "von Tag zu Tag" durchgeführt.
Bei der Präzisionprüfung in der Serie wurden zwei Kälberseren jeweils zwölfmal geprüft. Um den Test in verschiedenen Meßbereichen zu kontrollieren, wurden zwei Blutseren ausgewählt, die unterschiedliche IgG_1-Konzentrationen enthielten.

Die Präzisionskontrolle von Tag zu Tag wurde anhand drei individueller Blutseren aus unterschiedlichen IgG_1-Konzentrations-Bereichen durchgeführt. Im Zeitraum von zwei Wochen wurden von den portionsweise eingefrorenen Seren täglich jeweils eine Probe aufgetaut und unter gleichen Umgebungsbedingungen auf den Testplatten geprüft.

Die dem Test beigefügte Gebrauchsanweisung schreibt eine Inkubationszeit zwischen 18 und 24 Stunden vor. Um die ermittelten Meßwerte nach 18 bzw. 24 Stunden vergleichen zu können, wurden die auf der RID-Scheibe gebildeten weißen Präzipitate in einer Serie von 30 verschiedenen Seren zu den zwei Zeitpunkten abgelesen.

Nach Herstellerangaben ist der "Calf Colostrum Ig Status Test" ein für Praxisbedingungen vorgesehener Fertigtest, der nicht nur für die Untersuchungen von Serum- und Plasmaproben, sondern auch für Vollblut geeignet ist. Um mögliche Unterschiede zwischen den Meßergebnissen von Serum- und Vollblutproben zu erfassen und gleichzeitig einen eventuellen Einfluß der Höhe des Hämatokritwertes festzustellen, wurden von 34 an Durchfall erkrankten Kälbern jeweils EDTA - Blut und Serum vom selben Tier auf einer Testscheibe geprüft.

Prüfung der IgG_1-Gehalte sowie anderer Blutparameter bei an Durchfall erkrankten Kälbern

An Blutproben von 54 in die Klinik eingelieferten Kälbern wurden folgende Parameter bestimmt: Hämatokrit, Gesamtprotein und Eiweißfraktionen. Die Messungen erfolgten jeweils dreifach.
Sämtliche Proben wurden auch mit dem radialen Immundiffusions-Fertigtest geprüft. In 34 Fällen kamen sowohl Serum als auch Vollblut des selben Tieres zur Analyse.

ERGEBNISSE

Ergebnisse der Richtigkeits- und Präzisionskontrolle des Testes

Für die Richtigkeitskontrolle des RID-Testes wurden Standardseren mitbekannten IgG_1-Konzentrationen der Firma Miles Laboratories verwendet. Die für die Seren angegebenen IgG_1-Konzentrationen beliefen sich auf 35, 75, 150 und 300 mg/100 ml.
In Tabelle 2 sind die Meßergebnisse bei diesen Kontrollseren dargestellt.

Die mittels des RID-Testes gemessenen IgG_1-Gehalte zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Konzentrationen der Standardseren. Die größte Abweichung (sowohl relativ als auch absolut) ergab sich beim Kontrollserum mit der niedrigsten IgG_1-Konzentration (35 mg/100 ml). Hierbei ist zu bemerken, daß die untere Grenze des Meßbereiches der RID-Platte aus praktischen Gründen (kleinster meßbarer Präzipitathof) bei 30 bis 40 mg/100 ml liegt (je nach Charge).

Tabelle 2: Ergebnisse der Richtigkeitskontrolle des radialen Immundiffusionstestes.

IgG_1-Konzentration Standardserum	g/dl	0,035	0,075	0,150	0,300
gemessene IgG_1-Konzentration RID-Test	g/dl	0,080	0,092	0,116	0,280

Die Präzisionskontrollen wurden "in der Serie" sowie "von Tag zu Tag" durchgeführt.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Präzisionskontrollen in der Serie. Die im Experiment gemessenen Präzipitatdurchmesser sowie die Mittelwerte ($\bar{x}$), die Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (VK) sind in der Tabelle aufgeführt. Daraus ist zu ersehen, daß nur geringe Unterschiede in den ermittelten Werten aus identischem Serum in verschiedenen Agarlöchern der RID-Platte abzulesen sind. Dies gilt sowohl im unteren als auch im oberen Meßbereich des Testes.

Tabelle 3: Ergebnisse der Präzisionskontrolle in der Serie

	N	Variationsbreite der Präzipitatdurchmesser (mm)	Mittelwerte $\bar{x}$ (mm)	Standardabweichung $\bar{s}$ (mm)	Variationskoeffizient VK (%)
Serum mit hohem IgG_1-Gehalt	12	11,4-12,1	11,88	0,22	1,85
Serum mit niedrigem IgG_1-Gehalt	12	8,1 - 8,6	8,35	0,16	1,92

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Präzisionskontrolle von Tag zu Tag anhand dreier verschiedener Blutseren aus unterschiedlichen IgG_1-Konzentrations-Bereichen. Die Variationskoeffizienten der gemessenen Präzipitatdurchmesser liegen deutlich unter 5%.

Tabelle 4: Ergebnisse der Präzisionskontrolle von Tag zu Tag

	N	Variationsbreite der Präzipitatdurchmesser (mm)	Mittelwerte $\bar{x}$ (mm)	Standardabweichung $\bar{s}$ (mm)	Variationskoeffizient VK (%)
Serum mit hohem IgG_1-Gehalt	14	11,5-12,3	11,98	0,24	2,00
Serum mit mittlerem IgG_1-Gehalt	14	9,4-10,2	9,84	0,21	2,13
Serum mit niedrigem IgG_1-Gehalt	14	7,6-8,5	8,11	0,30	3,70

Ergebnisse der Prüfung des Zeiteinflußes auf die ermittelten IgG_1-Werte

Um den Zeiteinfluß auf die Größe des Präzipitates zu prüfen, wurden 30 auf der RID-Platte getestete Seren nach 18 und 24 Stunden Reaktionszeit ausgewertet.

In Abbildung 3 sind die mit Hilfe des RID-Testes zu den zwei verschiedenen Ablesezeiten ermittelten IgG_1-Gehalte mit den durch Elektrophorese gemessenen Gammaglobulingehalten verglichen.
Hieraus ergibt es sich zunächst, daß ein zeitbedingter Unterschied in der Größe der gebildeteten Präzipitathöfe besteht. Ein bei der ersten Ablesung relativ kleiner Präzipitatring nimmt im Verlauf von weiteren 6 Stunden Inkubation prozentual weniger zu als ein von Anfang an größerer Präzipitathof. So wird ein zeitabhängiger Einfluß auf die ermittelten IgG_1-Konzentrationen deutlicher bei Blutseren mit hohen IgG_1-Gehalten.

Aus der Abbildung 3 ist auch zu ersehen, daß die mittels Elektrophorese gemessenen Gammaglobulingehalte eine bessere Übereinstimmung mit den nach 18 Stunden abgelesenen IgG_1-Gehalten des RID-Testes ergeben als mit denen nach 24 Stunden Inkubation.

Eine gute Korrelation zwischen den elektrophoretisch gemessenen Gammaglobulingehalten und den RID-gemessenen IgG_1-Gehalten besteht jedoch sowohl nach 18 Stunden als auch nach 24 Stunden Reaktionszeit.

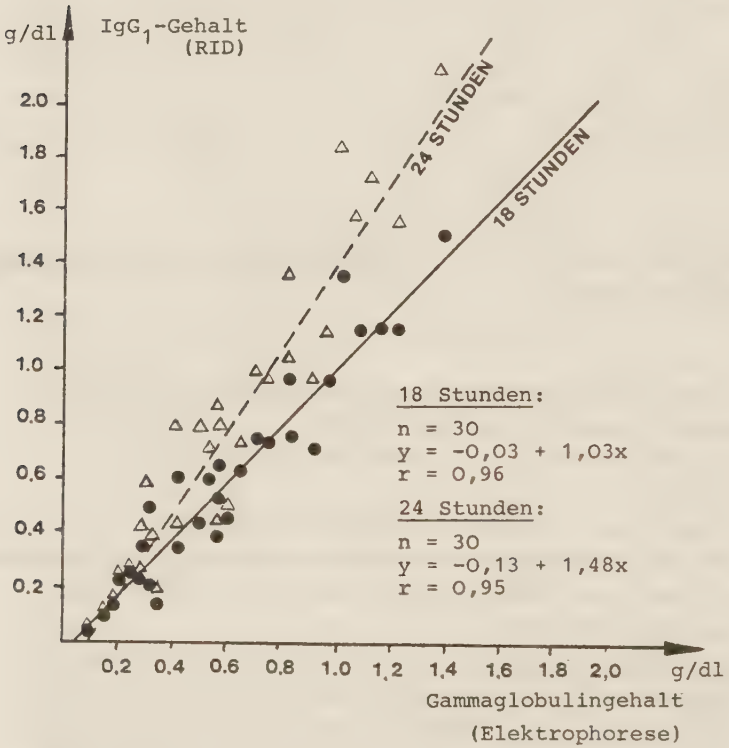

Abbildung 3: IgG_1-Werte nach Inkubation der Proben für 18 Stunden bzw. 24 Stunden im Vergleich mit den mittels Elektrophorese gemessenen Gammaglobulinkonzentrationen.

Ergebnisse der Messung der IgG_1-Gehalte in Serum- bzw. Vollblutproben mittels des Testes

Von 34 Kälbern wurden sowohl eine Vollblut- als auch eine Serumprobe auf der RID-Scheibe getestet.

Abbildung 4 stellt die lineare Beziehung zwischen den aus den Untersuchungen ermittelten Werten im Vollblut und im Serum dar. Die berechnete Regressionsgerade hat die Gleichung: $y = 0{,}03 + 0{,}47x$ und einen Korrelationskoeffizienten (r) von 0,94.

Es ist zu erwarten, daß eine auf der RID-Platte einpipettierte Vollblutprobe - wegen des Erythrozytenanteils - weniger IgG_1 enthält, als eine Serumprobe mit gleichem Volumen. Die Höhe des Hämatokrits könnte damit die bei Vollblutproben ermittelten IgG_1-Werte beeinflußen.

Unabhängig vom jeweiligen Hämatokritwert betrugen die in Vollblutproben gemessenen IgG_1-Konzentrationen durchschnittlich 47% der in den zugehörigen Seren ermittelten Gehalte, d.h. die Messungen verliefen so, als ob ein durchschnittlicher Hämatokritwert von 53 Volumen% vorgelegen hätte.

Auch aus der guten Korrelation der Werte aus Vollblut- bzw. Serumproben verschiedener Tiere (mit unterschiedlichem Hämatokrit) geht hervor, daß der Hämatokrit nicht den erwarteten Einfluß zu haben scheint.

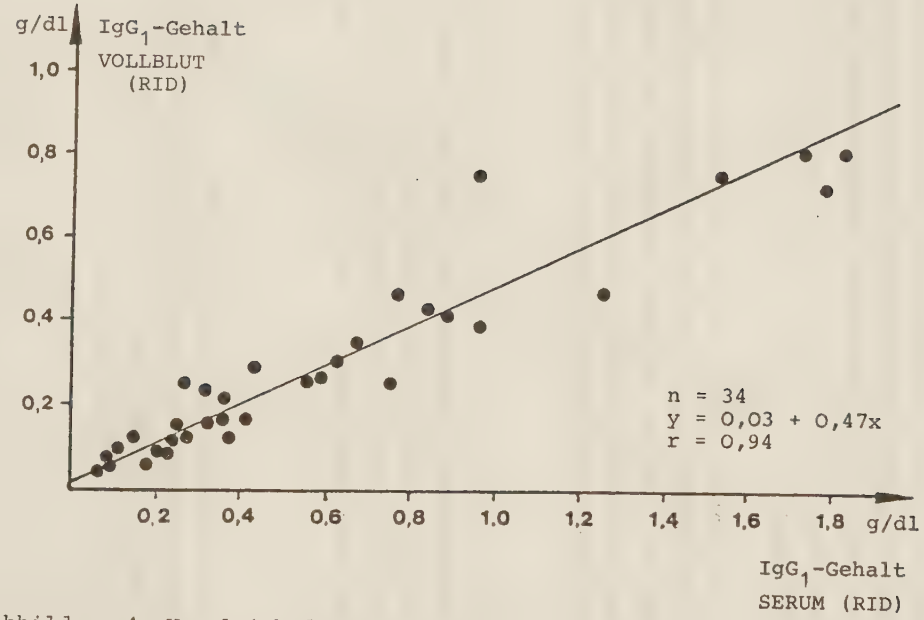

Abbildung 4: Vergleich der mit RID-Test gemessenen IgG_1-Werte im Vollblut und Serum bei 34 Durchfallkälbern

Vergleich der Ergebnisse der Elektrophorese und des radialen Immundiffusionstestes

Die Seren von 54 Kälbern wurden mittels Elektrophorese untersucht und vergleichend mit dem RID-Test ausgewertet. Somit ergab sich die Möglichkeit, die mittels Elektrophorese gewonnenen Gammaglobulinwerte mit den IgG_1-Werten der RID-Methode zu vergleichen.
Die Abbildung 5 veranschaulicht die Korrelation zwischen den beiden Meßmethoden. Die einfache lineare Regression lautet: $y = 0{,}03 + 1{,}01x$ und der Korrelationskoeffizient (r) wurde zu 0,88 errechnet.

Die durch die beiden Methoden ermittelten Werte sind gut zueinander korreliert und zeigen im Durchschnitt eine gute Übereinstimmung.

Größere Abweichungen treten lediglich bei Seren mit höheren IgG_1-Gehalten auf.

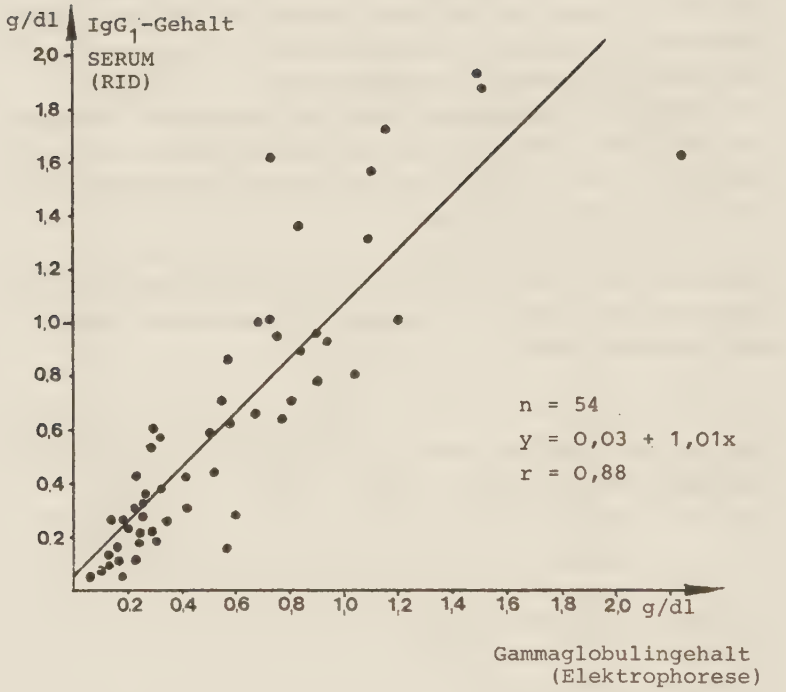

Abbildung 5: Vergleich zwischen elektrophoretisch ermitteltem Gammaglobulingehalt und IgG_1-Gehalt (RID-Test) im Serum bei 54 Kälbern mit Durchfall.

Gleichfalls wurden die Ergebnisse des RID-Testes mit Vollblut mit denen der Elektrophorese verglichen. In Abbildung 6 sind die Werte der 34 Blutproben aufgetragen. Auf der Abszisse sind die elektrophoretisch bestimmten Gammaglobulinmengen aufgezeichnet und auf der Ordinate die direkt abgelesenen IgG_1-Gehalte im Vollblut.

Der Korrelationskoeffizient (r) zwischen den beiden Methoden beträgt 0,91; die Gleichung der Regressionsgeraden lautet: y = 0,02 + 0,48x.

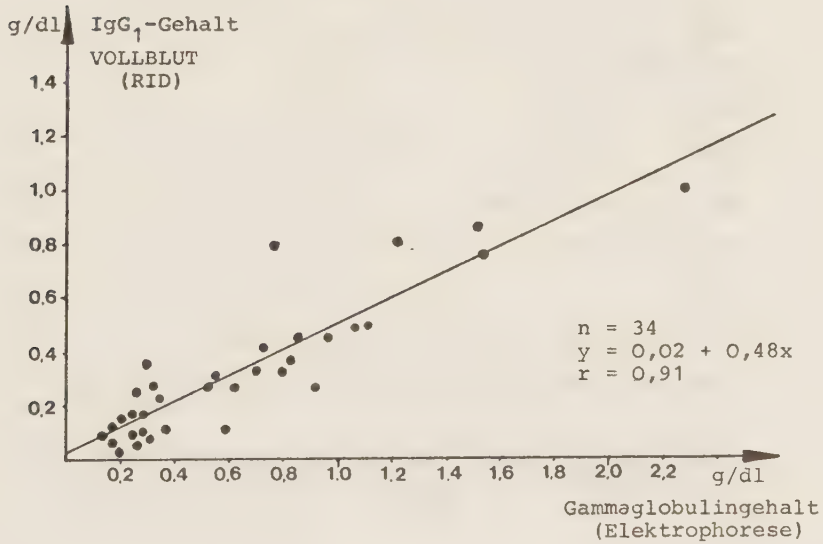

Abbildung 6: Vergleich zwischen elektrophoretisch ermitteltem Gammaglobulingehalt im Serum und IgG_1-Gehalt (RID) im Vollblut bei 34 Kälbern mit Durchfall.

Ergebnisse der Untersuchungen an Durchfallkälbern

Altersverteilung der Versuchskälber und die Krankheitsdauer laut Vorbericht

Abbildung 7 zeigt die Altersverteilung des Patientenmaterials am Tag der Einstallung und der Probenentnahme. Die Kälber waren zwischen 3 und 14 Tagen alt; 37 der 54 Tiere sollen nach Angabe des Besitzers zur Zeit der Einstallung älter als eine Woche gewesen sein.

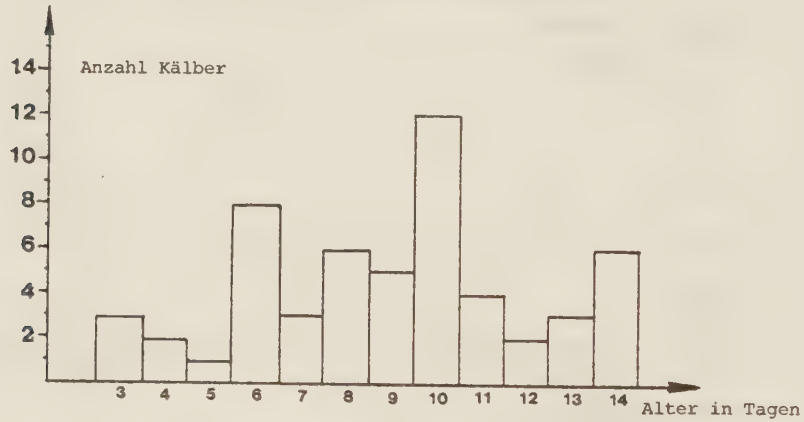

Abbildung 7: Lebensalter der untersuchten Kälber bei der Einlieferung in die Klinik.

Die Krankheitsdauer der Patienten war vor Einlieferung sehr unterschiedlich und schwankte den Angaben zufolge zwischen einem und neun Tagen. Bei 30 Kälbern wurde der Durchfall längstens zwei Tage vor Klinikeinstellung entdeckt. Die 3 bis 9 Tage alten Kälber hatten im Durchschnitt eine Krankheitsdauer von 1,7 Tagen, während die älteren, 10 bis 14 Tage alten Kälber, schon seit durchschnittlich 5 Tagen erkrankt waren.

Bei zwei Kälbern im Alter von 11 bzw. 12 Tagen konnte keine Auskunft über die Dauer der Erkrankung eingeholt werden.Die beiden Tiere sind daher in dieser Aufstellung nicht berücksichtigt.

Klinische Beurteilung des Grades der Exsikkose

Anhand des klinischen Befundes bei der Einlieferung wurden die Durchfallpatienten nach vier Schweregraden der Exsikkose aufgeteilt (ROUSSEL, 1983).
Zur Gruppe I zählten 15 Tiere, die am Einlieferungstag an Durchfall litten, aber keine oder nur geringe klinisch erkennbare Austrocknungserscheinungen aufwiesen.

27 der 54 Kälber sind in Gruppe II einzuordnen. Diese Kälber zeigten beginnende Austrocknung in Form von herabgesetztem Hautturgor und/oder leicht eingesunkenen Bulbi. Die Kotbeschaffenheit variierte von schleimiger bis wäßriger Konsistenz.

Die Gruppe III umfaßt Kälber mit deutlichen Zeichen einer Exsikkose. Die Augäpfel waren deutlich eingefallen und der Hautturgor deutlich reduziert. Die Kälber machten einen müden Eindruck, die Tränkeaufnahme war vermindert oder sistierte. Der überwiegende Teil der Patienten setzte wäßrigen Kot ab.

Die sechs am schwersten erkrankten Tiere bilden Gruppe IV. Der starke bis extreme exsikkotische Zustand der Tiere wurde durch verminderte Hautelastizität, Einsinken der Bulbi, trockene Schleimhäute sowie verlorenes Stehvermögen und stark gestörtes Allgemeinbefinden offensichtlich.

In der Abbildung 8 sind die 54 Tiere nach zwei Altersgruppen unterteilt (28 Kälber zwischen 3 und 9 Tagen und 26 Kälber im Alter von 10 bis 14 Tagen) und nach dem Grad der Exsikkose (Gruppe I-IV) geordnet. Es geht daraus hervor, daß im allgemeinen die älteren Kälber durch die Flüssigkeitsverluste stärker exsikkotisch waren als die jüngeren. Von insgesamt 12 schwer oder sehr schwer erkrankten Tieren (Gruppe III und IV) gehörten 9 zu den älteren, während von den insgesamt 28 jüngeren Kälbern nur 3 (11%) in schwerkrankem Zustand eingeliefert worden waren.

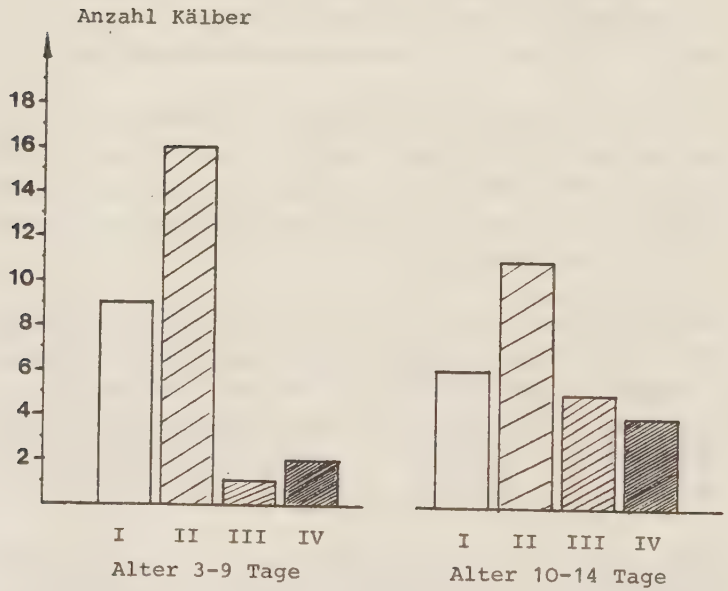

Abbildung 8: Grad der klinisch feststellbaren Exsikkose in Bezug zum Alter der Kälber bei Einlieferung in die Klinik. (Erläuterungen siehe Text)

Ergebnisse der Blutuntersuchungen auf IgG_1-Gehalt und weitere Blutparameter bei an Durchfall erkrankten Kälbern

Die ermittelten Werte der gemessenen Blutparameter der 54 Kälber sind in Abbildung 9 dargestellt.

Die Streuung der gemessenen Blutwerte um den Normalbereich geht ebenfalls aus dem Punktediagramm hervor.

Für die in Abbildung 9 aufgeführten Blutparameter wurden folgende Normalwerte gewählt: Hämatokrit 28-38%; Gesamteiweiß 5-6 g/dl: Albumin 2,2 - 3,2 g/dl; Gammaglobulin 0,8 - 1,8 g/dl; IgG_1 0,7 - 1,7 g/dl. Diese Normalgrenzen stützen sich auf Angaben aus der Literatur (siehe dazu auch Tabelle 1).

Sämtliche Hämatokritwerte lagen innerhalb des Normalbereiches oder darüber, was infolge des Flüssigkeitsverlustes und der damit zusammenhängenden Hämokonzentration zu erwarten war.

Die gemessenen Gesamteiweißgehalte in den Kälberseren zeigten eine große Streuung: Minimalwert 2,6 g/dl, Maximalwert 7,0 g/dl.

Der Serumalbumingehalt betrug im Durchschnitt 2,65 $\pm$ 0,47 g/dl. Die Konzentrationen liegen zum größten Teil im Normalbereich. Ein extrem hoher Albumingehalt (4,3 g/dl) wurde bei einem stark exsikkotischen Kalb gemessen. Das Tier wies einen Hämatokritwert von 61% und eine Gesamteiweißkonzentration von 7,0 g/dl auf.

Die elektrophoretisch bestimmten Gammaglobulingehalte der 54 untersuchten Kälber liegen zum Teil erheblich unter dem hier angegebenen Normalbereich.

In der Abbildung 9 sind ferner die mittels RID-Methode gemessenen IgG_1-Gehalte eingetragen. Da beim Kalb der Hauptanteil der Gammaglobuline aus Immunglobulin der Klasse G_1 besteht (BUTLER, 1971), verteilen sich die beiden Parameter in gleicher Weise.

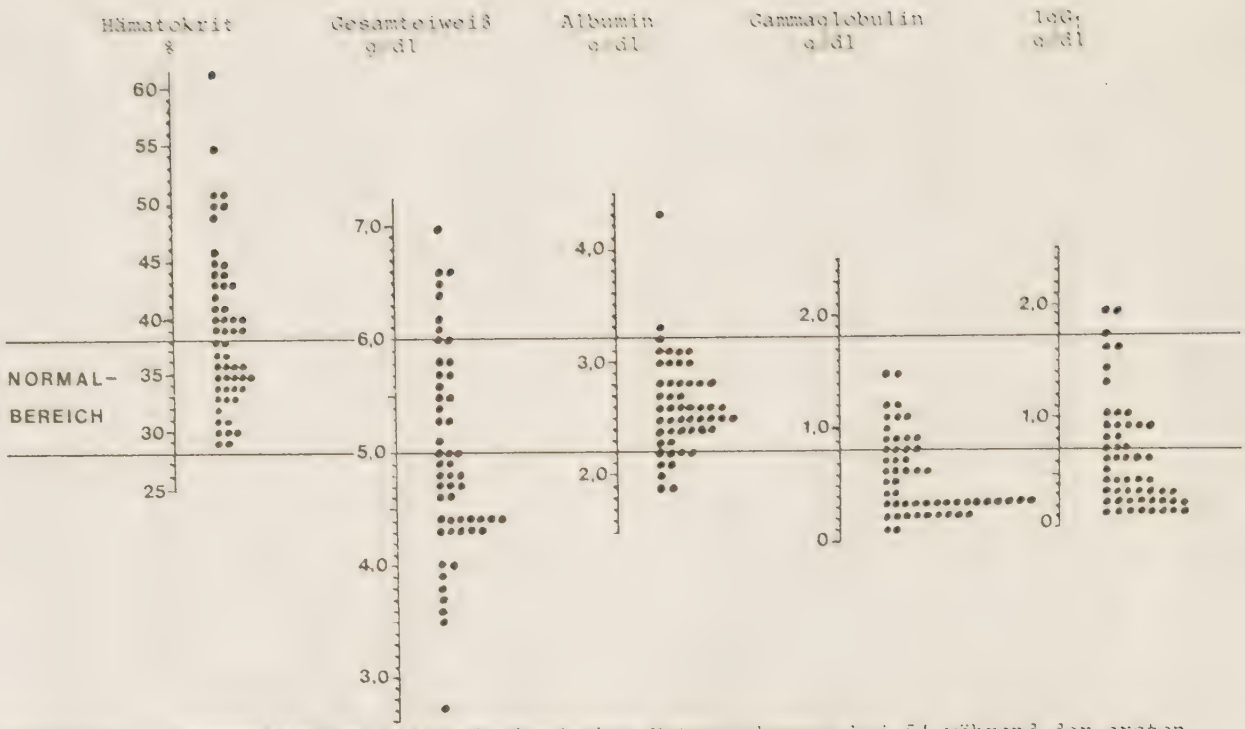

Abbildung 9: Ergebnisse der klinisch-chemischen Untersuchungen bei 54 während der ersten zwei Lebenswochen an Durchfall erkrankten Kälbern.

Beziehung zwischen Gesamteiweißgehalt und IgG_1-Gehalt bei den an Durchfall erkrankten Kälbern

Die anhand der Biuretmethode ermittelten Gesamteiweißgehalte sind in Abbildung 10 in Beziehung zu den IgG_1-Konzentrationen gestellt.

Wie aus der Darstellung ersichtlich, besteht eine Korrelation zwischen den beiden Parametern bei den 54 erkrankten Kälbern. Die lineare Regression ($y = 4,32 + 1,19x$) hat einen Korrelationskoeffizienten (r) von 0,65. Die größten Abweichungen von der Regressionsgeraden stammen von einigen Proben mit niedrigen IgG_1-Gehalten.

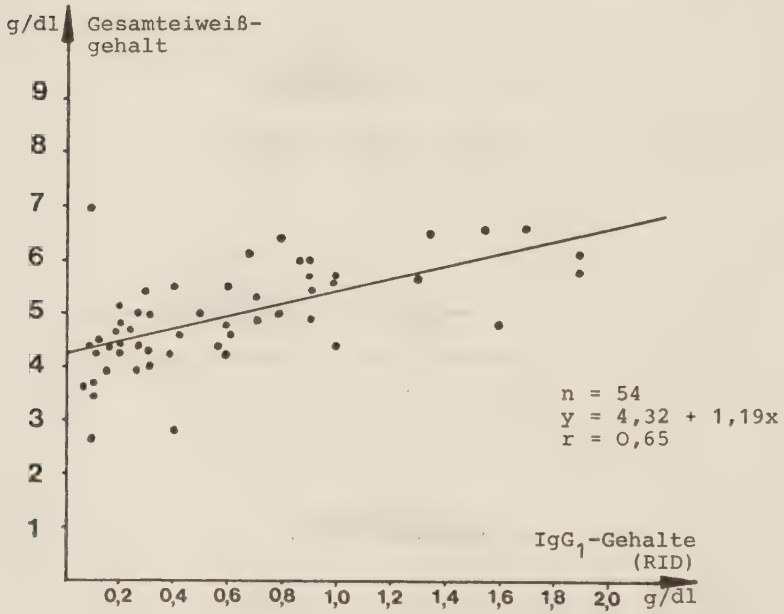

Abbildung 10: Korrelation der IgG_1- und Gesamteiweiß-Werte bei der Einstellung von 54 Kälbern mit Diarrhoe.

Ergebnisse der gemessenen Blutparameter der Diarrhoe-Kälber unter Berücksichtigung der klinisch feststellbaren Exsikkose

Das gesamte Patientenmaterial wurde, wie bereits früher erwähnt, nach dem Schweregrad der Exsikkose in vier Gruppen eingeteilt (Gruppe I-IV). In Tabelle 5 sind die innerhalb dieser Gruppen ermittelten Durchschnittswerte der gemessenen Blutparameter aufgeführt.

Auffallend ist der stetige Anstieg des Hämatokrits mit zunehmenden Exsikkoseerscheinungen. Alle anderen Parameter differieren innerhalb der Gruppen nur unwesentlich. Ausnahmen sind der deutlich erhöhte Gesamteiweißgehalt der schwer exsikkotischen Kälber und der relativ geringe Gammaglobulingehalt der Gruppe III (Tiere mit mittelgradiger Exsikkose).

In Tabelle 6 sind die Kälber in zwei Gruppen anhand der Serum-IgG_1-Gehalte unter oder $\geq$ 0,75g/dl eingeteilt und dem Exsikkosegrad zugeordnet.

In 19 Fällen (35%) ergab die IgG_1-Messung einen Wert über 0,75 g/dl, während die Konzentration in 35 Seren (65%) unter dem gewählten Grenzwert lag. Die prozentuale Verteilung auf die vier Gruppen läßt keine Unterschiede zwischen hypo- und normogammaglobulinämischen Kälbern hinsichtlich des Schweregrades der Erkrankung erkennen.

Tabelle 6: Exsikkosegrad der Durchfallkälber in Beziehung zum Serum-IgG_1-Gehalt (höher/gleich oder niedriger als 0,75 g/dl).

	Keine klin. feststellb. Exsikkose	leichte Exsikkose	mittel-gradige Exsikkose	schwere Exsikkose	N
IgG_1-Gehalt $< 0{,}75$ g/dl	10 (29%)	17 (49%)	4 (11%)	4 (11%)	35
IgG_1-Gehalt $\geq 0{,}75$ g/dl	5 (26%)	10 (53%)	2 (10,5%)	2 (10,5%)	19

	Keine klinisch feststellbare Exsikkose	Leichte Exsikkose	Mittelgradige Exsikkose	Schwere Exsikkose
Anzahl Kälber	15	27	6	6
Hämatokrit %	35,9 ± 4,0	39,0 ± 5,9	41,5 ± 6,9	44,3 ± 13,0
Gesamteiweiß g/dl	4,76 ± 0,65	4,93 ± 0,76	4,84 ± 1,17	5,55 ± 1,56
Albumin g/dl	2,56 ± 0,26	2,55 ± 0,37	2,86 ± 0,37	2,84 ± 0,90
Gammaglobulin g/dl	0,51 ± 0,43	0,59 ± 0,34	0,38 ± 0,28	0,58 ± 0,43
IgG_1 g/dl	0,59 ± 0,54	0,63 ± 0,46	0,53 ± 0,48	0,56 ± 0,62

Tabelle 5: Verschiedene Blutwerte ($\bar{x} \pm s$) bei Kälbern mit Durchfall in Bezug zum Grad der klinisch feststellbaren Exssikose.

Letalitätsrate der Durchfallkälber in Beziehung zu den gemessenen Blutparametern sowie dem Grad der feststellbaren Exsikkose

Von den 54 in die Klinik eingelieferten Kälbern haben 33 in anscheinend gesundem Zustand die Klinik wieder verlassen. Als Kriterium für die Entlassung galt ungestörtes Allgemeinbefinden, Körpertemperatur im Normalbereich, gute Tränkeaufnahme und seit mindestens zwei Tagen physiologische Kotbeschaffenheit. Der Klinikaufenthalt bei diesen Kälbern dauerte im Durchschnitt 5,8 Tage.

21 Kälber starben in der Klinik, davon 9 Tiere bereits innerhalb der ersten zwei Tage. Mit Ausnahme eines Tieres zeigten diese Kälber schon am Tag der Einstellung deutliche klinische Zeichen der Dehydration. Die restlichen, zu einem späteren Zeitpunkt verendeten Kälber überlebten im Durchschnitt 5,1 Tage. In 18 von 21 Fällen kann angenommen werden, daß der Tod in direktem Zusammenhang mit der Diarrhoe eintrat. Drei Kälber starben an anderen Komplikationen, was sowohl klinisch als auch pathologisch-anatomisch festgestellt werden konnte.

Nach Angaben der Besitzer sind auch noch 5 aus der Klinik entlassene Kälber später verendet. Diese Tiere erreichten ein Alter von 3 Wochen oder mehr. Vor allem wurden respiratorische Erkrankungen als Todesursachen vermutet, was aber nur in einem Fall durch Sektion bestätigt werden konnte.

In Tabelle 7 sind die gemessenen Blutparameter in Beziehung zur Letalitäts- und Überlebensrate der Kälber aufgeführt. Während zwischen den überlebenden und später verendeten Kälbern zum Zeitpunkt der Einlieferung keine nennenswerte Differenz im Hämatokrit, Gesamteiweiß-,

Albumin- und Gammaglobulin-Gehalt festzustellen war, bestand ein schwach signifikanter Unterschied in der IgG_1-Konzentration. Die Variation der IgG_1-Gehalte war jedoch relativ hoch.

Tabelle 7: Gemessene Blutparameter bei der Einstellung in Beziehung zum Ausgang der Erkrankung bei 54 Kälbern mit Durchfall.

	Genesen	innerhalb von 4 Wo. gestorben
Anzahl Kälber	28	26
Hämatokrit %	39,9 ± 5,5	39,1 ± 8,4
Gesamteiweiß g/dl	5,11 ± 0,76	4,76 ± 1,0
Albumin g/dl	2,68 ± 0,33	2,51 ± 0,51
Gammaglobulin g/dl	0,64 ± 0,39	0,44 ± 0,33
IgG_1 g/l	0,76 ± 0,53	0,43* ± 0,38

* schwach signifikant

In Abbildung 11 sind die IgG_1-Gehalte der später verendeten und der "mindestens 4 Wochen überlebenden" Kälber aufgeführt.
Eine Tendenz zu höherer Sterblichkeit wird in den Gruppen mit niedrigen IgG_1-Gehalten deutlich. Wenn ein IgG_1-Gehalt von 0,75g/dl als Grenzwert gewählt wird, ist in der hypogammaglobulinämischen Gruppe eine Letalitätsrate von 60% zu verzeichnen, während bei den Kälbern mit höheren IgG_1-Titern ($\geq$0,75g/dl) nur 25% der Tiere verendeten.

Die Abbildung 12 zeigt die Verteilung zwischen den überlebenden und später gestorbenen Tieren in Beziehung zum Grad der klinisch erkennbaren Exsikkose bei der Einlieferung in die Klinik.
Daraus ergibt sich, daß mit steigendem Exsikkosegrad die Überlebenschance der Kälber geringer war. Die Überlebensrate in der Gruppe ohne klinisch feststellbare Exsikkose betrug 80%. Dagegen überlebte von den 12 schwer erkrankten Kälbern der Gruppen III und IV nur ein Tier.

Relativ gleichmäßig verteilen sich Überlebens- und Todesraten der Gruppe II. Von 27 leicht exsikkotischen Kälbern überlebten 15, während 12 Tiere verendeten.

Innerhalb dieser Gruppe II bestand ein signifikanter Unterschied des IgG_1-Mittelwertes (allerdings mit großer Variationsbreite) zwischen den später als geheilt angesehenen und den später gestorbenen Kälbern. Die IgG_1-Konzentrationen der geheilten Kälber betrugen im Durchschnitt 0,87 $\pm$ 0,45 g/dl; die der später verendeten Kälber 0,33 $\pm$ 0,24 g/dl.

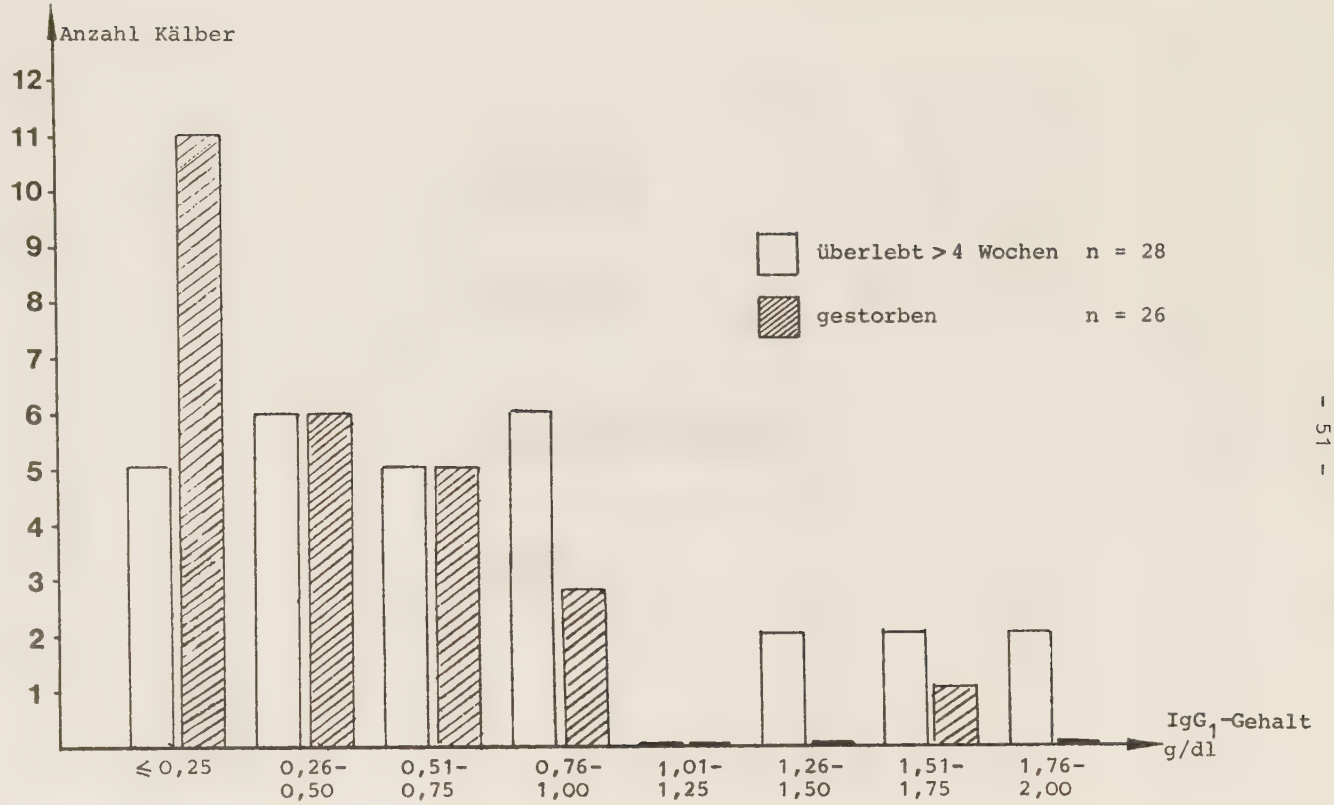

Abbildung 11: IgG_1-Gehalte im Serum und Krankheitsverlauf (überlebt oder gestorben) bei 54 an Durchfall erkrankten Kälbern.

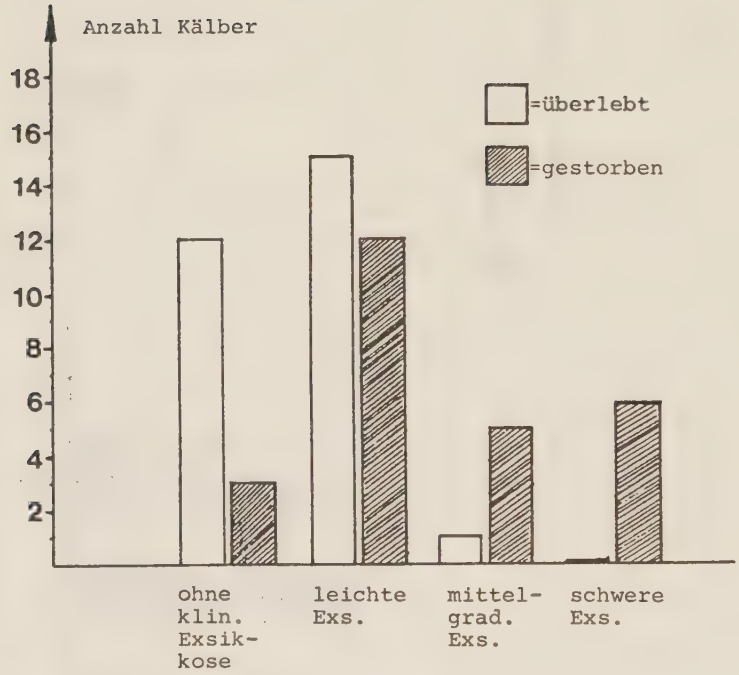

Abbildung 12: Exsikkosegrad bei der Einlieferung in Beziehung zum Krankheitsverlauf (überlebt oder gestorben)

Aussagekraft des radialen Immundiffusionstestes in Hinsicht auf die Prognose bei Durchfallkälbern

Aus Tabelle 8 sind die Überlebenschancen eines an Durchfall erkrankten Kalbes unter Berücksichtigung des durchgeführten IgG_1-RID-Testes ersichtlich. Hier sind "prognostische Sensitivität", "prognostische Spezifität" und "prädiktiver Wert" errechnet (VECCHIO, 1966).

Als "Test-Positiv" gilt ein RID-gemessener IgG_1-Wert von gleich oder mehr als 0,75 g/dl, und als "Test-Negativ" eine ermittelte IgG_1-Konzentration unter diesem gewählten Wert.

Die prognostische Sensitivität zeigt den Anteil der tatsächlich überlebenden Tiere, die durch den RID-Test korrekt klassifiziert worden waren. Der prozentuale Anteil dieser Tiere lag bei 43%.

Die prognostische Spezifität wurde mit 0,85 errechnet. Dies bedeutet, daß bei 85% der später gestorbenen Tiere durch den Plattentest ein IgG_1-Gehalt unter 0,75 g/dl ermittelt wurde, und diese Kälber damit korrekt eingestuft werden konnten.

Als "prädiktiver Wert" (Testpositiv) gilt der Anteil der "Test-Positiven", die tatsächlich überlebt haben. Hier ergab sich ein Anteil von 75%.

Mit dem "prädiktiven Wert" (Testnegativ) erhält man die Anzahl der "Test-Negativen" (also mit einem IgG_1-Gehalt unter 0,75 g/dl), die tatsächlich verendet sind.

Der "prädiktive Wert" (T-) betrug 0.58. Dies bedeutet, daß nur 58% der Kälber, bei denen der mittels RID-Test gemessene IgG_1-Gehalt unter dem Grenzwert von 0,75 g/dl lag, auch eine schlechte Prognose hatten.

Wie früher erwähnt, wurden 27 von den untersuchten Kälbern mit leichten Exsikkoseerscheinungen und ungestörtem Allgemeinbefinden in die Klinik eingeliefert (Gruppe II in Abb. 12). In dieser Gruppe scheint die Aussagekraft des Testes hinsichtlich der Prognose höher zu sein als im gesamten Patientenstapel. Denn 92% von den später verendeten Kälbern wurden richtig eingestuft (prognostische Spezifität). Der prädiktive Wert des negativen Testergebnisses, also die Wahrscheinlichkeit, daß ein anhand des Testes als immundefizient eingestuftes Kalb später stirbt, ist jedoch auch in dieser Gruppe nur 61% (Tabelle 9).

Tabelle 8: Überlebenschancen eines Durchfallkalbes anhand des IgG_1-Testergebnisses (gesamtes Patientenmaterial, n = 54).

	$IgG_1 \geq 0,75$g/dl "Test-Positiv"	$IgG_1 < 0,75$g/dl "Test-Negativ"	
Überlebt (n)	12	16	28
gestorben (n)	4	22	26
	16	38	54

Prognostische Sensitivität: $\frac{12}{28} = 0,43$

Prognostische Spezifität : $\frac{22}{26} = 0,85$

Prädiktiver Wert (Test +) : $\frac{12}{16} = 0,75$

Prädiktiver Wert (Test -) : $\frac{22}{38} = 0,58$

Tabelle 9: Überlebenschancen eines leicht erkrankten Durchfallkalbes (n = 27) anhand des IgG_1-Testergebnisses.

	$IgG_1 \geq 0,75$g/dl "Test-Positiv"	$IgG_1 < 0,75$g/dl "Test-Negativ"	
Überlebt (n)	8	7	15
gestorben (n)	1	11	12
	9	18	27

Prognostische Sensitiviät : $\frac{8}{15} = 0,53$

Prognostische Spezifität : $\frac{11}{12} = 0,92$

Prädiktiver Wert (Test +) : $\frac{8}{9} = 0,89$

Prädiktiver Wert (Test -) : $\frac{11}{18} = 0,61$

DISKUSSION

Die einfache radiale Immundiffusionstechnik zur Ermittlung des Immunglobulingehaltes findet heute in der Veterinärmedizin breite Anwendung und gilt als Methode der Wahl für die quantitative Immunglobulinbestimmung (MIELKE et al., 1977). Sie kommt insbesondere in Frage bei der Ermittlung von verschiedenen Immunglobulinklassen oder -Subklassen und bei der Messung von sehr niedrigen Immunglobulin-Konzentrationen, was beispielsweise bei der Anwendung der Methode bei neugeborenen Kälbern eine Rolle spielt (PFEIFFER et al., 1977).

In dieser Arbeit wurde ein gebrauchsfertiger radialer Immundiffusions-Plattentest geprüft. Voraussetzung für den Einsatz des Testes unter Praxisbedingungen zur Prüfung des Immunglobulinstatus bei Kälbern ist zunächst die ausreichende Präzision und Richtigkeit der ermittelten Werte.

Die in den eigenen Untersuchungen getesteten Seren mit bekannten IgG_1-Konzentrationen zur Richtigkeitskontrolle stimmen mit den abgelesenen Werten des RID-Testes gut überein.
Die Richtigkeit des Testes kann daher als gut bezeichnet werden. Dabei ist jedoch zu bemerken, daß die IgG_1-Konzentrationen der Standardseren im Vergleich zum Meßbereich des Testes verhältnismäßig niedrig lagen, so daß die Richtigkeit der RID-Platt hauptsächlich im unteren Maßbereich getestet werden konnte.

Keine praktischen Schwierigkeiten ergaben sich bei der Messung der Präzipitatgröße mit Hilfe der dem Test beigefügten Schablone. Die von NAYLOR (1977) beschriebene doppelte Präzipitatbildung mit einem inneren zweiten

Präzipitatring, der von einem kleineren IgG_2-Gehalt herrühren soll, konnte in den eigenen Untersuchungen nicht beobachtet werden. Laut PRIOR und PORTER (1980) ist aber das in der RID-Platte eingemischte Serum nicht frei von Anti-IgG_2-Antikörpern.

Die Präzision des Testes ist befriedigend. Die errechneten Variationskoeffizienten liegen weit unter den nach den Richtlinien der Bundesärztekammer für Immunglobulinbestimmungen tolerierbaren 10% (HALLMANN, 1980).

Die mittels RID-Test gemessenen IgG_1-Gehalte wurden mit den elektrophoretisch bestimmten Gammaglobulinwerten verglichen. Die ermittelten RID-Messwerte stimmen mit denen der Elektrophorese überein ($y = 0{,}03 + 1{,}01x$; $r = 0{,}88$). Das Ergebnis deckt sich in etwa mit Vergleichsuntersuchungen von LORENZANA (1979), die einen Korrelationskoeffizienten von 0,82 errechnete. Die mit der RID-Methode gemessenen IgG_1-Werte lagen jedoch im Durchschnitt höher als die mittels Elektrophorese bestimmten Gammaglobulingehalte. Nach Untersuchungen von PFEIFFER et al. (1977) besteht die Möglichkeit, daß mit der Elektrophorese niedrigere Immunglobulingehalte im Vergleich zur radialen Immundiffusion ermittelt werden.

Um mögliche Auswirkungen verschiedener Inkubationszeiten auf die Meßergebnisse zu überprüfen, wurden in den eigenen Untersuchungen 30 Testseren sowohl nach 18 Stunden als auch nach 24 Stunden abgelesen und mit den bei der Elektrophorese ermittelten Gammaglobulingehalten verglichen. Die bessere Übereinstimmung ergab sich dabei nach 18 Stunden. Ablesungen zu diesen beiden Zeitpunkten führen zwar offensichtlich zu divergierenden Ergebnissen, die Unterschiede sind jedoch im Hinblick auf die Anwendung des Testes unbedeutend, da Kälber mit Hypogammaglobulinämie sowohl bei Ablesung

18 Stunden nach Ansatz des Testes als auch nach 24 Stunden identifiziert werden können.

Nach Angaben des Herstellers und Untersuchungen von PRIOR und PORTER (1980) kann der Test auch mit Vollblut durchgeführt werden. Der Einsatz des Testes bei Durchfallkälbern setzt jedoch voraus, daß unterschiedliche Hämatokritwerte die im Vollblut ermittelten Ergebnisse nicht beeinflussen. In den eigenen Untersuchungen stammten die Proben von 34 Durchfallkälbern mit stark variierenden Hämatokritwerten (28%-61%). Zwischen ermittelten Vollblut- und Serumwerten ergab sich eine lineare Beziehung ($y = 0{,}03 + 0{,}47x$; $r = 0{,}94$). Unabhängig von Hämatokritwerten im Bereich von 28% bis 61% lagen die gemessenen Vollblutwerte bei durchschnittlich 47% der entsprechenden Serumgehalte. Eine Erklärung für dieses Verhältnis konnte nicht gefunden werden. Die Empfehlung des Herstellers,die ermittelten Vollblutwerte zur Berechnung der Serumgehalte zu verdoppeln, konnte damit durch die eigenen Ergebnisse in etwa bestätigt werden. Inwiefern jedoch bei stark erniedrigten und stark erhöhten Hämatokritwerten ein Einfluß auf die Testergebnisse besteht, ließ sich im Rahmen dieser Arbeit nicht klären. Da der Hämatokritwert das Testergebnis aber nicht wesentlich zu beeinflußen scheint, läßt sich der Test vermutlich nicht nur bei gesunden Tieren, sondern insbesondere auch bei Durchfallkälbern anwenden.

Eine praktische Anwendung des radialen Immundiffusionstestes bei Durchfallkälbern erscheint aber nur sinnvoll,wenn durch die Immunglobulinbestimmung eine prognostisch oder strategisch verwendbare Information gewonnen werden kann. Um Hinweise über die Rolle der Serum-Immunglobuline bei Durchfallkälbern zu bekommen, wurden Untersuchungen an 54 Tieren, die in den ersten zwei Lebenswochen an Diarrhoe erkrankten, angestellt.

Auffallend war zunächst, daß der Immunglobulingehalt im Serum bei den untersuchten Kälbern zum größten Teil entweder im unteren Normalbereich lag oder deutlich erniedrigt war. Diese Beobachtung deckt sich mit den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren. Es ist dabei zudem zu berücksichtigen, daß Tiere mit diarrhoebedingtem Flüssigkeitsverlust eine Hämokonzentration zeigen, wie aus den mehr oder weniger deutlich erhöhten Hämatokritwerten ersichtlich ist. Verglichen mit gesunden Kälbern konnten THORNTON et al. (1972) signifikant niedrigere Gammaglobulingehalte bei an Durchfall erkrankten Kälbern im Alter bis zu 10 Tagen aufzeigen. Stark erniedrigte Gehalte sämtlicher Immunglobulinklassen konnten auch von SCHMIDT et al. (1982) bei neonatal erkrankten Kälbern in Vergleich mit gesunden Altersgenossen festgestellt werden. Auch McGUIRE et al. (1976) konnten bei 80% der von ihnen untersuchten Kälbern im Alter bis zu drei Wochen, die an infektiösen Erkrankungen verendeten, einen vergleichsweise niedrigen Immunglobulinspiegel nachweisen.

Als Ursache eines niedrigen IgG_1-Niveaus bei Durchfallkälbern können mehrere Faktoren in Frage kommen. Zunächst muß der humorale Immunstatus vor der Erkrankung berücksichtigt werden. Mehrere Verfasser sind der Ansicht, daß primär hypogammaglobulinämische Kälber eher gefährdet sind an akuter Diarrhoe zu erkranken, als Kälber mit normalem Immunglobulingehalt (GAY, 1965; PENHALE et al., 1970; BOYD, 1972; NAYLOR und KRONFELD, 1977).

Der Gammaglobulinstatus verändert sich mit dem Alter des Tieres. Der maximale Immunglobulingehalt im Serum wird nach dem ersten Lebenstag erreicht und fällt anschließend auch bei gesunden Tieren als Ausdruck eines Antikörperverbrauchs kontinuierlich ab (HUSBAND et al., 1972). Aus den eigenen Ergebnissen sind

altersabhängige Unterschiede im Antikörperspiegel nicht zu ersehen. Da aber keine Messungen vor der jeweiligen Erkrankung durchgeführt werden konnten, kann ein gewisser altersbedingter Unterschied des Immunglobulinstatus nicht ausgeschlossen werden.

Auch die aktive Eigensynthese beeinträchtigt den Serumgehalt an Immunglobulinen. Das Kalb ist bei der Geburt immunologisch kompetent (SCHULTZ et al., 1971). Übertragene maternale Antikörper hemmen jedoch die Immunantwort des Kalbes. Aus diesem Grund sind Kälber mit Hypogammaglobulinämie früher zu aktiver Synthese der Immunglobuline fähig. SCHMIDT et al. (1982) zeigten bei neugeborenen Kälbern einen deutlichen Anstieg der humoralen Immunglobuline am vierten Erkrankungstag im Vergleich mit gesunden Tieren auf.

Außer dem IgG_1-Gehalt wurden auch andere Blutparameter bei den Versuchskälbern gemessen. Die Hämatokritwerte lagen in Vergleich mit den von STÖBER und GRÜNDER (1977) für Rinder vorgeschlagenen "Normalgrenzen" (30-40%) im oberen Bereich oder darüber. NAYLOR und KRONFELD (1977) fanden bei klinisch gesunden Kälbern im Alter von ein bis acht Tagen einen Mittelwert des Hämatokrits mit 37% $\pm$ 7,6%. Im Vergleich dazu ist der durchschnittliche Hämatokritwert in den eigenen Untersuchungen nur unwesentlich höher (39% $\pm$ 7,0%). Der Grad des Hämatokritanstieges bei dem Einzeltier stand in Relation zu klinisch erfaßbaren Anzeichen der Austrocknung.

Im Hinblick auf die Ermittlung des Immunglobulingehaltes ist auch der Gesamteiweißgehalt im Serum als schneller und einfach bestimmbarer Parameter von Interesse. Mehrere Untersucher haben eine gute Korrelation zwischen Gesamteiweiß- und Immunglobulingehalt im Kälberserum feststellen können (McBEATH et al., 1971; TENNANT et al., 1979; von SCHWARTZ, 1980). BRAUN und TENNANT

(1983) fanden bei über 900 gesunden Kälbern eine deutliche Beziehung zwischen dem mit Refraktometrie ermittelten Gesamteiweißgehalt und der Gammaglobulin-Konzentration.

In den eigenen Untersuchungen läßt die Gesamteiweißkonzentration wie der Hämatokrit eine gewisse Korrelation mit den klinischen Anzeichen der Exsikkose erkennen. Die IgG_1-Gehalte schwankten in den einzelnen Untergruppen erheblich, wobei die Mittelwerte keine Korrelation zur Exsikkose erkennen lassen. Dies kann prinzipiell auf zwei Faktoren beruhen, die sich gegenseitig nicht ausschließen, nämlich auf erhöhter Morbidität hypogammglobulinämischer Kälber und intestinalem Verlust von Immunglobulinen.

Die Regressionsgerade ($y = 4,32 + 1,19x$; y = Gesamteiweiß und $x = IgG_1$) unterscheidet sich wenig von der Geraden die zu erwarten wäre, wenn Unterschiede im Gesamteiweißgehalt allein auf das Konto der Immunglobuline gingen. Das absolute Glied der Regressionsgeraden (also der Ordinatenabschnitt) ist vergleichbar mit dem von BRAUN und TENNANT (1983) gefundenen von 3,99. Das kann so interpretiert werden, daß die Hämatokritkonzentration bei den meisten eigenen Probanden nicht sehr ausgeprägt war. Daß eine starke Hämokonzentration die Brauchbarkeit der Gesamteiweißbestimmung als Parameter für die IgG_1-Konzentration in Frage stellen kann, zeigen die Werte, die bei einem Kalb gemessen wurden:
Gesamteiweiß: 7,0 g/dl; IgG_1: 0,1 g/dl. Entsprechend der Regressionsgeraden wäre bei einem Gesamteiweißgehalt von 7,0 g/dl eine IgG_1-Konzentration von 2,32 g/dl zu erwarten.

Es erscheint naheliegend, den Immunglobulingehalt des Serums als prognostischen Parameter zu verwenden. Die Letalität war im eigenen Patientenmaterial mit 48%

relativ hoch. Bei den untersuchten Kälbern handelt es sich jedoch um selektives Material, d.h. viele Kälber waren schon länger erkrankt und entsprechend vorbehandelt. Aussagen über die Prognose müssen daher unter diesem Aspekt betrachtet werden. Es zeichnet sich jedoch ab, daß die Letalität in der Gruppe mit niedrigem IgG_1-Gehalt höher lag als bei den Durchfallkälbern mit höherem Immunglobulingehalt. Die später als geheilt aus der Klinik entlassenen Tiere wiesen bei der Probenentnahme ein durchschnittliches IgG_1-Niveau von 0,76 g/dl auf. Bei Kälbern, die später verendeten, lag der Serum-IgG_1-Gehalt durchschnittlich bei nur 0,43 g/dl (p 0,05).
In der Mehrzahl früherer Studien wird eine negative Korrelation zwischen humoral erworbenem Serum-Immunglobulintiter und der Mortalität beschrieben (z.B. McEWAN et al., 1970; PENHALE et al., 1970; BRAUN und TENNANT, 1983).

Es ist in der Regel sehr schwierig, anhand des Immunglobulinspiegels sogenannte "Risikokälber" auszumachen. Die Angaben von Grenzwerten der Immunglobulingehalte, bei denen ein erhöhtes Krankheitsrisiko zu erwarten ist, schwanken in der Literatur stark. McGUIRE et al. (1982) fassen Angaben von mehreren Autoren zusammen und schlagen folgende Einteilung vor: Ein IgG_1-Gehalt unter 0,8 g/dl spricht für eine schlechte Prognose, Werte zwischen 0,8 g/dl und 1,6 g/dl lassen eine mässige Überlebenschance zu, und bei Gehalten über 1,6 g/dl kann man eine gute Prognose erwarten. BRAUN und TENNANT (1983) legten den Grenzwert für ein wesentlich erhöhtes Krankheitsrisiko mit 0,3 g/dl dagegen niedriger fest.

Bei den eigenen Versuchskälbern zeichnet sich ein Grenzwert von etwa 0,75 g/dl ab, über dem eine relativ günstige Prognose zu erwarten ist.Da es sich aber im Ge-

gensatz zu den Literaturangaben in den eigenen Untersuchungen um kranke Kälber handelte, ist die Prognosestellung natürlich in erster Linie von anderen klinischen Parametern abhängig. Bei Durchfallerkrankungen spielt auch die lokale Immunität im Darm eine wichtige Rolle (PORTER et al., 1977)
Es genügt daher nicht allein, durch den Serum-Immunglobulinspiegel Aussagen über den Immunstatus des Kalbes zu machen.
Die Serum-Immunglobulinbestimmung mit Hilfe des RID-Testes sollte daher nur als prognostisches Hilfsmittel zusätzlich zur klinischen Untersuchung herangezogen werden.

Eine praktische Bedeutung erlangt die Immunglobulinbestimmung nach den Ergebnissen dieser Untersuchung vor allem für Kälber, die bei ungestörtem Allgemeinbefinden leichte klinische Anzeichen einer Exsikkose erkennen lassen; denn sowohl bei leicht als auch bei schwer erkrankten Tieren ist die Prognose meist mit hinreichender Sicherheit auf der Basis der klinischen Befunde zu stellen. Im eigenen Patientenmaterial waren 27 Kälber in der oben beschriebenen Weise erkrankt. Von diesen zeigten 12 später verendete Tiere einen mittleren IgG_1-Spiegel von 0,33 g/dl, während bei 15 später als geheilt entlassenen Tieren eine mittlere IgG_1-Konzentration von 0,87 g/dl festgestellt wurde. Allerdings bestand eine erhebliche Überlappung der Variationsbreiten.

Die Untersuchungen zeigen, daß der RID-Test mit vorgefertigten Platten ein technisch einfaches Verfahren ist und befriedigende Richtigkeit und Präzision aufweist. Als praktisch bedeutsame Einsatzmöglichkeit kommt in erster Linie die Überprüfung des Immunstatus von gesunden Kälbern nach Kolostrumaufnahme in Problembeständen in Frage. Denkbar wäre auch, im Rahmen von

Einstellungsuntersuchungen in Kälber- und Bullenmastbetrieben mit diesem Test solche Tiere herauszusondern, die aufgrund niedriger Immunglobulintiter ein erhöhtes Krankheitsrisiko tragen.
Dagegen scheint mit Hilfe des RID-Testes eine prognostische Aussage bei Durchfallkälbern sehr fraglich, da selbst 5 von 16 Kälbern mit einem IgG_1-Spiegel im Serum von weniger als 0,25 g/dl überlebten.
Die Prognosestellung ist letztendlich von den klinischen Untersuchungsbefunden abhängig. Der IgG_1-Gehalt kann jedoch eine zusätzliche Information insbesondere bei leicht erkrankten Kälbern geben.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde ein einfacher radialer Immundiffusions-(RID)-Test zur Bestimmung des IgG_1-Gehaltes beim Kalb auf seine Richtigkeit und Präzision geprüft und sein praktischer Einsatz an 54 Durchfallkälbern im Alter bis zu 14 Tagen erprobt.

Ergebnisse:

1. Der RID-Test zeigte mit Seren bekannter IgG_1-Konzentrationen eine ausreichende Richtigkeit.

2. Die Unpräzision des Testes wurde mit weniger als 5% errechnet.
3. Zwischen den mit dem RID-Test ermittelten IgG_1-Konzentationen und den elektrophoretisch gemessenen Gammaglobulingehalten bestand eine gute Korrelation (r = 0,88); im Durchschnitt stimmten die Werte weitgehend überein.

4. Der RID-Test ist auch mit Vollblut durchführbar. Die ermittelten IgG_1-Gehalte betrugen durchschnittlich 47% der entsprechenden Serum-IgG_1.Gehalte.

5. Bei 17 an Durchfall leidenden Kälbern (31%) lag der IgG_1-Gehalt unter 0,25 g/dl, bei 21 Kälbern (39%) zwischen 0,25 g/dl und 0,75 g/dl und bei 16 Kälbern (30%) über 0,75 g/dl.

6. Die vergleichsweise gemessenen Gesamteiweißgehalte der Durchfallkälber unterschieden sich erheblich; die Korrelation mit den mittels RID gemessenen IgG_1-Gehalten betrug 0,65.

7. Die Letalität belief sich bei den untersuchten Kälbern auf 48%. Von den Kälbern mit einem IgG_1-Gehalt

über 0,75 g/dl starben 25%, während die Todesrate bei einem IgG_1-Titer unter 0,75 g/dl bei 60% lag.

8. Bei den Durchfallkälbern, die bei der Probenentnahme nur leichte klinische Krankheitserscheinungen zeigten, bestand ein signifikanter Unterschied im Serum-IgG_1-Gehalt zwischen den später geheilten und den verendeten Tieren.

9. Eine eindeutige Aussage über die Prognose bei neonataler Diarrhoe ist anhand des Testergebnisses nicht möglich.

10. Der radiale Immundiffusionstest kann als eine einfache Methode mit ausreichender Präzision und Richtigkeit zur Bestimmung des Immunglobulinstatus im Serum wie auch im Vollblut von Kälbern angesehen werden.

Investigations of the applicability of a simple radial immunodiffusion test ("Calf Colostrum Ig Status") for the determination of the gammaglobulin level in the blood of calves.

Summary

A simple radial immunodiffusion (RID) test for the determination of IgG_1 content in calves was examined for its accuracy and precision and its practical use was tested on 54 calves up to 14 days of age with diarrhea.

Results:

1. The RID test showed satisfactory accuracy with serum of known IgG_1 concentration.

2. The imprecision of the test was calculated as less than 5%.

3. A good correlation (r = 0,88) existed between the IgG_1 concentrations determined by the RID test and the gammaglobulin content measured electrophoretically; the values corresponded closely on the average.

4. The RID test is also practicable on whole blood. The IgG_1 levels determined amounted to an average of 47% of the corresponding serum IgG_1 content.

5. In 17 calves (31%) suffering from diarrhea the IgG_1 level lay below 0,25 g/dl, in 21 calves (39%) it was between 0,25 g/dl and 0,75 g/dl and in 16 calves (30%) over 0,75 g/dl.

6. The comparatively measured total serum protein levels

of the diarrhea calves varied considerably; correlation with the IgG_1 content measured by RID amounted to 0,65.

7. Mortality of the calves examined came to 48%. 25% of the calves with an IgG_1 level over 0,75 g/dl died, while the death rate was 60% when the IgG_1 titer was below 0,75 g/dl.

8. For the calves showing only mild clinical symptoms of illness at the time of sampling a significant difference in serum IgG_1 content exsisted between the animals which later recovered and those which died.

9. A clear statement about the prognosis in neonatal diarrhea is not possible on the basis of the test results.

10. The simple radial immunodiffusion test can be looked at as an easy method for determining the immunoglobulin status of calves from either serum or whole blood with satisfactory precision and accuracy.

LITERATURVERZEICHNIS

AALUND, C., D. BLAKESLEE, J.E. BUTLER, J.R. DUNCAN, M.J. FREEMAN, R. JENNESS, J.M. KEHOE, J.P. MACH, J. RAPACZ, J.P. VAERMAN und A.J. WINTER (1971)
Proposed nomenclature of the immunoglobulins of the domesticated bovidae cattle (bos taurus), sheep (ovis aries), goats (capra hircus).
Can. J. Comp. Med. 35, 346-348

BERGER, W. (1979)
Vergleichende Untersuchungen über den Gammaglobulingehalt im Kolostrum und Kälberblut unter besonderer Berücksichtigung des Gesundheitszustandes der neugeborenen Kälber und der Jahreszeit.
Vet. Med. Diss., Hannover

BOYD, J.W. (1972)
The relationship between serum immune globulin deficiency and disease in calves: a farm survey.
Vet. Rec. 90, 645-649

BRAMBELL, F.W. (1970)
The transmission of passive immunity from mother to young.
American Elsevier Publishing Co, New York, 201-227

BRANDON, M.R., D.L. WATSON und A.K. LASCELLES (1971)
The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows.
Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 49, 613

BRAUN, R.K. und B.C. TENNANT (1983)
The relationship of serum γ globulin levels of assembled neonatal calves to mortality caused by enteric diseases.
Agri-practice 4, 14-24

BUTLER, J.E. (1969)
Bovine immunoglobulins: a review.
J. Dairy Sci. 52, 1895-1909

BUTLER, J.E. (1971)
Review of the bovine immunoglobulins.
J. Dairy Sci. 54, 1315-1316

BUTLER, J.E. (1973)
Synthesis and distribution of immunoglobulins.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 163, 795-798

BUTLER, J.E. (1974)
Immunoglobulins of the mammary secretions.
In:LARSSON, B.L. und V.R. SMITH, Lactation: A comprehensive treatise, ed. Academic Press, New York, Vol. III, 217

DARDILLAT, J., G. TRILLAT und P. LARVOR (1978)
Colostrum immunoglobulin concentrations in cows: Relationship with their calf mortality and with the colostrum quality of their female offspring.
Ann. Rech. Vét. 9, 375-384

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (1976)
Arbeitswerte in der Laboratoriumsdiagnostik.
Beilage zu:
Tierärztl. Praxis 4, Heft 4

ESCHER, S. (1979)
Vergleichende Untersuchungen über den IgG - und IgM-Gehalt im Kolostrum und Kälberblut mit Hilfe der einfachen radialen Immundiffusion.
Vet. Med. Diss., Hannover

FAHEY, J.L. und E.M. McKELVEY (1965)
Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody agar plates.
J. Immunol. 94, 84-90

FALLON, R.J. (1978)
The effect of immunoglobulin levels on calf performance and methods of artificially feeding colostrum to the newborn calf.
Ann. Rech. Vét. 9, 347-352

FEINBERG, J. (1957)
Identification, discrimination and quantification in Ouchterlony gel plates.
Int. Arch. Allergy 11, 129-152

FELLENBERGER, R. von (1978)
Kompendium der allgemeinen Immunologie.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

FEY, H. (1967)
Die Bedeutung des Gamma-Globulins für das neugeborene Kalb.
Österr. Tierärzte-Ztg. Bericht ITA Symposium, 17-28

FISHER, E.W., I.E. SELMAN, A.D. McEWAN und G.H. DE LA FUENTE (1968)
Some causes of and some factors affecting mortality in newborn calves.
Fifth International Meeting on Diseases in Cattle. Opatija Jugoslavia Reports and Contr. 1968, 41-52

FISHER, E.W., A.A. MARTINEZ, Z. TRAININ und R. MEIROM (1975)
Studies of neonatal calf diarrhoea. II. Serum and faecal immune globulins in enteric colibacillosis.
Brit. Vet. J. 131, 402-415

FISHER, E.W., A.A. MARTINEZ, Z. TRAININ und R. MEIROM (1976)
Studies of neonatal calf diarrhoea. VI. Serum and immune globulins in calves with mixed infections.
Brit. Vet. J. 132, 252-258

FISHER, E.W. und A.A. MARTINEZ (1978)
The relationship between the zinc sulphate turbity test, serum immune globulins and the susceptibility of calves to diarrhoea.
Brit. Vet. J. 134, 231-233

GAY, C.C., N. ANDERSON, E.W. FISHER und A.D. McEWAN (1965)
Gammaglobulin levels and neonatal mortality in market calves.
Vet. Rec. 77, 148-149

HALLMANN, L. (1980)
Klinische Chemie und Mikroskopie. 11. Auflage.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

HARTMANN, H. (1981)
Zur Rotavirus-Infektion des Kalbes unter Berücksichtigung immunprophylaktischer Fragen.
Monatsh. Vet. Med. 36, 826-832

HESS, R.G., P.A. BACHMANN, W. EICHHORN und P. PLANK (1982)
Stimulierung der laktogenen Immunität des Rindes gegenüber Rotavirus-Infektionen.
14. DVG-Kongreß, Bad Nauheim, 1981 In: Fortschr. Vet. Med. 35, 103-108

HUSBAND, A.J., M.R. BRANDON und A.K. LASCELLES (1972)
Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves.
Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 50, 491-498

KIELWEIN, G. (1976)
Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

KLAUS, G.G.B., A. BENNET und E.W. JONES (1969)
A quantitative study of the transfer of colostral immunoglobulins to the newborn calf.
Immunology 16, 293-299

KLEE, W., D. SCHILLINGER und G. DIRKSEN (1979)
Blutharnstoff und Hämatokrit bei der Kälberdiarrhoe - diagnostische und prognostische Bedeutung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 86, 465-470

KOLB, E. (1967)
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, 2. Auflage.
Verlag Fischer, Jena

KOLB, E. (1979)
Neuere Erkenntnisse zur Entstehung und Verhütung von Kälberverlusten unter besonderer Berücksichtigung stoffwechsel- und immunbio-

chemischer Aspekte.
Tierzucht 33, 162-165

KRUSE, V. (1970)
Yield of colostrum and immunoglobulin in cattle at the first milking after parturition.
Anim. Prod. 12, 619-626

KUNZ, W. (1982)
Muttertierimpfungen mit einer Rota-Corona-Vakzine zur Bekämpfung des Kälberdurchfalles - klinische Erfahrungen.
Tierärztl. Umschau 37, 505-506

LAMBRECHT, G. (1980)
Untersuchungen über Immunglobulin- und Molkenproteingehalt (Nephelometrie, einfache radiale Immundiffusion und Kjeldahlverfahren) im Erstkolostrum beim Rind mit besonderer Berücksichtigung von Umweltbedingungen und Vererbung.
Vet. Med. Diss., Hannover

LIBERG, P. (1976)
Immunförsvaret hos spädkalv.
Sv. Vet. Tidn. 12, 545-548

LOGAN, E.F. (1974)
Colostral immunity to colibacillosis in the neonatal calf.
Brit. Vet. J. 130, 405-412

LOGAN, E.F. (1977)
The influence of husbandry on colostrum yield and immunoglobulin concentration in beef cows.
Brit. Vet. J. 133. 120-125

LOGAN, E.F. und W.J. PENHALE (1971 a)
Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. I. The influence of colostral whey and immunoglobulin fraction on experimental coli septicaemia.
Vet. Rec. 88, 222-228

LOGAN, E.F. und W.J. PENHALE (1971 b)
Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. IV. The prevention of experimental coli septicaemia by the intravenous administration of a bovine serum IgM-rich fraction.
Vet. Rec. 89, 663-667

LOGAN, E.F., W.J. PENHALE und R.A. JONES (1973)
Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum-fed calves during the first 12 weeks post partum.
Res. Vet. Sci. 14, 394-397

LOGAN, E.F., C.H. MURRAY, D.G. O'NEILL, P.J. McPARLAND und F.J. McRORY (1978)
Absorption of colostral immunoglobulins by the neonatal calf.
Brit. Vet. J. 134, 258-262

LOMBA, F., I. FUMIERE, M. TSHIBANGU, G. CHAUVAUX und V. BIENFET (1978)
Immunoglobulin transfer to calves and health problems in large bovine units.
Ann. Rech. Vêt. 9, 353-360

LORENZANA, H. BALDIZON de (1979)
Untersuchungen über die Aussagekraft der Refraktometrie im Vergleich zur Biuretreaktion, Elektrophorese und der radialen Immunodiffusion zur Eiweißbestimmung im Blut junger Kälber.
Vet. Med. Diss., Hannover

LUMSDEN, J.H., K. MULLEN und R. ROWE (1980)
Hematology and biochemistry reference values for female Holstein cattle.
Can. J. Comp. Med. 44, 24-31

MANCINI, G., A.O. CARBONARA und J.F. HEREMANS (1965)
Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochem. 2, 235-254

MARSCHANG, F. (1982)
Rund ums Kolostrum: Eine Übersicht.
Tierärztl. Umschau 37, 851-862

MARSH, C.L., C.A. MEBUS und N.R. UNDERDAHL (1969)
Loss of serum proteins via the intestinal tract in calves with infectious diarrhea.
Am. J. Vet. Res. 30, 163-166

MAYR, A., J. WIZIGMANN und T. SCHLIESSER (1965)
Untersuchungen über infektiöse Kälbererkrankungen während der Neugeborenen-Phase.
Zbl. Vet. Med. Reihe B, 12, 1-12

McBEATH, D.G., W.J. PENHALE und E.F. LOGAN (1971)
An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content.
Vet. Rec. 88, 266-270

Mc EWAN, A.D., E.W. FISHER und I.E. SELMAN (1970 a)
Observations on the immune levels of neonatal calves and their relationship to disease.
J. Comp. Path. 80, 259-265

McEWAN, A.D., E.W. FISHER, I.E. SELMAN und W.J. PENHALE (1970 b)
A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum.
Clin. Chem. Act. 27, 155-163

McGUIRE, T.C., N.E. PFEIFFER, J.M. WEIKEL und R.C. BARTSCH (1976)
Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 169, 713-718

McGUIRE, T.C. und D.S. ADAMS (1982)
Failure of colostral immunoglobulin transfer to calves: prevalence and diagnosis.
Comp. Cont. Ed. Pract. Vet. 4, No. 1, Suppl. 35-39

MIELKE, H., H. LEHMANN und H. RICHTER (1977)
Darstellung zur Physiologie und Biochemie der Immunität des Rindes.
2. Mitt.: Immunchemische Bestimmung der Rinder-Immunglobuline.
Monatsh. Vet. Med. 32, 547-550

MITSCHERLICH, E. (1977)
Grundlagen der Immunitätsbildung und der Immunprophylaxe beim neugeborenen Kalb.
Tierärztl. Praxis 5, 45-47

MULLER, L.D. und D.K. ELLINGER (1981)
Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle.
J. Dairy Sci. 64, 1727-1730.

NAYLOR, J.M. (1979)
Quantitation of immunoglobulins in calf serum.
Vet. Rec. 104, 84-85

NAYLOR, J.M. und D.S. KRONFELD (1977)
Refratometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn calf: comparision with the zinc sulphate turbidity test and single radial immunodiffusion.
Am. J. Vet. Res. 38, 1331-1334

OSBURN, B.I. (1973)
Immune responsiveness of the fetus and neonate.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 163, 801-803

OUCHTERLONY, Ö. (1949)
Antigen-antibody reactions in gels.
Ark. Kemi, Min. Geol. B 26, 1

PENHALE, W.J. und G. CHRISTIE (1969)
Quantitative studies on bovine immunoglobulins.
I. Adult plasma and colostrum levels.
Res. Vet. Sci. 10, 493-501

PENHALE, W.J., G. CHRISTIE, A.D. McEWAN, E.W. FISHER und I.E. SELMAN (1970)
Quantitative studies on bovine immunoglobulins.
II. Plasma immunoglobulin levels in market calves and their relationship to neonatal infection.
Brit. Vet. J. 126, 30-37

PETZOLD, K. (1977)
Kompendium der veterinärmedizinischen Mikrobiologie. Teil I: Allgemeine Mikrobiologie und Seuchenlehre einschließlich der Immunologie.
Verlag Schaper, Hannover

PFEIFFER, N.E., T.C. McGUIRE, R.B. BENDEL und J.M. WEIKEL (1977)
Quantitation of bovine immunoglobulins: comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulphate turbidity, serum electrophoresis and refractometer methods.
Am. J. Vet. Res. 38, 693-698

PORTER, P. (1972)
Immunoglobulins in bovine mammary secretions: quantitative changes in early lactation and absorption by the neonatal calf.
Immunology 23, 225-238

PORTER, P., S.H. PARRY und W.D. ALLEN (1977)
Significance of immune mechanisms in relation to enteric infections of the gastrointestinal tract in animals.
Ciba Foundation Symposium 46 (new series): Immunology of the gut.
Elsevier/Excerpta Medica, North Holland

PRIOR, M.E. und P. PORTER (1980)
A simple method for evaluation of colostrum status in calves.
Vet. Rec. 107, 220-223

REID, J.F. und A.A. MARTINEZ (1975)
A modified refractometer method as a practical aid to the epidemiological investigation

of disease in the neonatal ruminant.
Vet. Rec. 96, 177-179

RISTEDT, H. (1980)
Untersuchungen über den Immunstatus von Kälbern in deren drei ersten Lebenstagen mit Hilfe der Nephelometrie, der Elektrophorese, der Refraktometrie und der Biuretreaktion.
Vet. Med. Diss., Hannover

ROUSSEL, A.J. (1983)
Principles and mechanics of fluid therapy in calves.
Comp. Cont. Ed. Pract. Vet. 5, No. 6, Suppl. 332-339

SANDHOLM, M. (1974)
A preliminary report of a rapid method for the demonstration of abnormal gammaglobulin levels in bovine whole blood.
Res. Vet. Sci. 17, 32-35

SASAKI, M., C.L. DAVIS und B.L. LARSON (1976)
Production and turnover of IgG_1 and IgG_2 immunoglobulins in the bovine around parturition.
J. Dairy Sci. 59, 2046-2055

SAWYER, M., B.I. OSBURN, H.D. KNIGHT und J.W. KENDRICK (1973)
A quantitative serologic assay for diagnosing congenital infections of cattle.
Am. J. Vet. Res. 34, 1281-1284

SCHMIDT, F.W., J.W. KIM, J. DERENBACH und H.J. LANGHOLZ (1982)
Kolostralimmunität und Aufzuchtleistung von

Kälbern in der Mutterkuhhaltung.
Tierärztl. Umschau 7, 485-488

SCHULTZ, R.D. (1973)
Developmental aspects of the fetal bovine immune response: A review.
Cornell Vet. 63, 507-535

SCHULTZ, R.D., F. CONFER und H.W. DUNNE (1971 a)
Occurence of blood cells and serum proteins in bovine fetuses and calves.
Can. J. Comp. Med. 35, 93-98

SCHULTZ, R.D., H.W. DUNNE und C.E. HEIST (1971 b)
Ontogeny of the bovine immune response.
J. Dairy Sci. 54, 1321-1322

SCHWARTZ, E. von (1980)
Vergleichende Unersuchungen zum Immunstatus junger Kälber in den ersten acht Lebenswochen unter Praxisbedingungen (Refractometrie, Elektrophorese, Biuretreaktion).
Vet.Med. Diss., Hannover

SENFT, B. und W. RAPPEN (1964)
Unersuchungen über die Zusammensetzung der Kolostralmilch bei schwarzbunten Kühen.
Milchwiss. 19, 577-583

SNODGRASS, D.R. und P.W. WELLS (1978)
Passive immunity in rotaviral infections.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 173, 565-569

SNODGRASS, D.R., K.J. FAHEY, P.W. WELLS, J. CAMPBELL und A. WHITELAW (1980)
Passive immunity in calf rotavirus infections: Maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin G_1 antibody secre-

tion in milk.
Infect. Immun. 28, 344-349

STÖBER, M. und H.D. GRÜNDER (1977)
Kreislauf. In: ROSENBERGER, G. (Hrsg),
Die klinische Untersuchung des Rindes.
2. Auflage, 114-182
Parey Verlag, Hamburg, Berlin

STOTT, G.H., D.B. MARX, B.E. MENEFEE und G.T. NIGHTENGALE (1979)
Colostral immunoglobulin transfer in calves.
J. Dairy Sci. 62
I. Period of absorption. S. 1632-1636
II. The rate of absorption. S. 1766-1773
III. Amount of absorption. S. 1902-1907

STOTT, G.H., W.A. FLEENOR und W.C. KLEESE (1981)
Colostral immunoglobulin concentration in two fractions of first milking postpartum and five additional milkings.
J. Dairy Sci. 64, 459-465

TENNANT, B., D.E. WARD, R.K. BRAUN, E.L. HUNT und B.H. BALDWIN (1978)
Clinical management and control of neonatal enteric infections of calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 173, 654-661

TENNANT, B., B.H. BALDWIN, R.K. BRAUN, N.L. NORCROSS und M. SANDHOLM (1979)
Use of the glutaraldehyde coagulation test for detection of hypogammaglobulinemia in neonatal calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 174, 848-853

THORNTON, J.R., R.A. WILLOUGHBY und B.J. McSHERRY (1972)
Studies on diarrhoea in neonatal calves: The plasma proteins of normal and diarrheic calves during the first ten days of age.
Can. J. Comp. Med. 36, 17-25

TIZARD, I.R. (1977)
An introduction to veterinary immunology.
W.B. Saunders Comp., Philadelphia

VECCHIO. T.J. (1966)
Predictive value of a single diagnostic test in unselected populations.
N. Engl. J. Med. 274, 1171-1173

WEICHSELBAUM, T.E. (1946)
An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma.
Am. J. Clin. Pathol. 7, 40-49

WOODE, G.N., J. JONES und J. BRIDGER (1975)
Levels of colostral antibodies against neonatal calf diarrhoea virus.
Vet. Rec. 97, 148-149

WOODE, G.N. und J.C. BRIDGER (1976)
Rotavirus in calves and rabbits.
Vet. Rec. 99, 322-323

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und für seinen fachlichen Rat während der Durchführung der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. W. Klee und Herrn Dr. W. Kunz, die mir jederzeit freundliche und wertvolle Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit gewährten.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen anderen Mitarbeitern der II. Medizinischen Tierklinik für ihre Hilfestellung und besonders bei den Medizinisch-Technischen-Assistentinnen für die große Unterstützung bei der Probenaufarbeitung.

LEBENSLAUF

Am 20.09.55 wurde ich, Anna Ellen Christina Bolinder, als Tochter des Diplomkaufmannes Carl Bolinder und seiner Ehefrau Ulva, geb. Pauli, in Stockholm, Schweden geboren.

Nach der neunjährigen Grundschule in Stockholm von 1961 bis 1970 besucht ich von 1970 bis 1973 das Gymnasium am gleichen Ort. Dort erhielt ich im Juni 1973 das Reifezeugnis.

Von 1973 bis 1978 studierte ich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität in Uppsala, Schweden. Ich bestand die Tierärztliche Prüfung und erhielt die Approbation am 21.12.1978.

Von Januar 1979 bis September 1980 habe ich als Landtierärztin im Staatsdienst in verschiedenen Distrikten in Schweden in der tierärztlichen Großtierpraxis gearbeitet.

Von Oktober 1980 bis Februar 1981 war ich als Tierärztin im Schwedischen Gesundheitsdienst angestellt.

Von März bis Mai 1981 arbeitete ich als Assistentin an der Ambulatorischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Uppsala.

Seit September 1981 bin ich zunächst als Hospitantin und seit dem 1. Juni 1982 als wissenschaftliche Hilfskraft an der II. Medizinischen Tierklinik (Vorstand Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen) der Universität München tätig.